Über einige, auf verschiedener Grundlage beruhende Methoden zur Bestimmung von Zucker. Beschreibung einer neuen Methode zur Erfassung der Fruktose.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

vorgelegt von

Alfred Petri
aus Windhuk (S.W.Afrika).

1937

Gatzer & Hahn, Graphische Werkstätten, Schramberg (Schwarzwald)

Referent: Dr. phil. nat. habil. R. Strohecker.

Korreferent: Professor Dr. H. Dieterle.

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Februar 1937.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern!

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Einleitung. 1

Angaben über die den Untersuchungen zu Grunde gelegten Zucker, Kohlehydrate und sonstigen Reagenzien. 2

I. Untersuchung des Reduktionsvermögens wässriger, mit Alkali oder Säuren behandelter Zuckerlösungen. 3

1. Titrationsversuche wässriger Zuckerlösungen mit 2,6-Dichlorphenolindophenol. 3
2. Titrationsversuche der mit Alkali behandelten Glukose. 5
   A. 2,6-Diphlorphenolindophenol-Methode. 5
   B. Jodometrische Methode. 7
3. Titrationsversuche einiger, mit Alkali behandelter anderer Zuckerarten. 8
4. Titrationsversuche der mit Säure behandelten Zuckerlösungen. 10
5. Versuche zur Isolierung des reduzierenden Stoffes, der bei der Behandlung der Zucker mit Säure entsteht. 11

II. Elektrische Leitfähigkeitsmessungen und p_H-Messungen mit sauren Zuckerlösungen . 15

1. Leitfähigkeitsmessungen mit salzsauren Zuckerlösungen. 15
2. Der Einfluß der Zucker auf das p_H von sauren Lösungen. 17
3. Leitfähigkeitsmessungen mit weinsauren Zuckerlösungen. 18
4. Leitfähigkeitsmessungen mit borsauren Zuckerlösungen. 18
5. p_H-Messungen der borsauren Zuckerlösungen. 20
6. Titrationen der borsauren Zuckerlösungen mit Alkali. 21

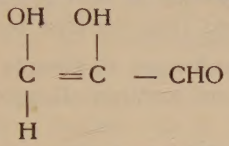
III. Polarimetrische Glukose- und Fruktosebestimmung in gepufferter Ammoniumboratlösung. 23

1. Vorversuche. 23
   A. Polarisationen von borsauren Glukose- und Fruktoselösungen mit Ammoniakzusatz. 23
   B. Polarisationen von Glukose und Fruktose in Ammoniumboratlösungen. 26
   C. Polarisationen von Glukose und Fruktose in Ammoniumboratlösungen mit Pufferzusatz. 27
2. Methode und Berechnung des Verfahrens mit Versuchen, die zu seiner Aufstellung führten. 34
3. Versuche zur Anwendung des Verfahrens in der Lebensmittelchemie. 39

A. Bienenhonig. 39
B. Kunsthonig. 40
IV. Untersuchungen über die Brauchbarkeit der jodometrischen Glukosebestimmungen nach F. Auerbach und Bodländer und nach J. M. Kolthoff. 41
Zusammenfassung. 42

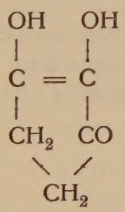
Einleitung.

Von H. von Euler (1) und anderen ist beobachtet worden, daß beim Kochen von Kohlehydraten mit Alkali stark reduzierende Abbaustoffe entstehen. Aus diesen Stoffen hat er das Redukton



Redukton $C_3H_4O_3$

isoliert, ein chemischer Körper, der genau wie die Askorbinsäure den Farbstoff 2,6-Dichlorphenolindophenol zur farblosen Leukoverbindung reduziert. Meine Aufgabe bestand darin, auf Grund dieses Reduktionsvermögens eine Bestimmungsmethode für Kohlehydrate durch Behandlung mit Alkali und daran anschließender Farbstofftitration auszuarbeiten. Ebenso wie die Versuche von H. von Euler (1) sollten auch die Beobachtungen von T. Reichstein und R. Oppenauer (2) zur Grundlage einer neuen quantitativen Bestimmungsmethode für Kohlehydrate gemacht werden. T. Reichstein und R. Oppenaer (2) war es gelungen, ebenso wie auch H. Goldschmidt (3), durch Behandlung von Kohlehydraten, besonders von Tetragalakturonsäure mit Schwefelsäure ebenfalls stark reduzierende Stoffe herzustellen, aus denen sie die Reduktinsäure



Reduktinsäure, $C_5H_6O_3$

abtrennten und einer näheren Untersuchung unterzogen.

Neben den Leitfähigkeitsmessungen der Milch hat R. Strohecker (4) einige Vorversuche über den Leitfähigkeitsabfall von Säuren durch Zusetzen von Kohlehydraten angestellt. Diese Untersuchungen sollten eingehender weitergeführt werden, und der Leitfähigkeitsabfall zur Aufstellung einer quantitativen Zuckerbestimmung herangezogen werden. Der Begriff des Leitfähigkeitsabfalls soll hier noch erklärt werden. Die Leitfähigkeit einer Lösung, die zwei Stoffe gelöst enthält, müßte sich, falls keine Reaktion stattfindet, rein additiv aus der Leitfähigkeit des einen gelösten Stoffes und der Leitfähigkeit des anderen gelösten Stoffes zusammensetzen.

Die Leitfähigkeit der in Lösung gebrachten Mischung der beiden Stoffe ist aber dennoch in manchen Fällen kleiner als die Summe der Leitfähigkeiten der einzelnen Mischungskomponenten. Die Differenz zwischen der Summe der Leitfähigkeiten der einzelnen Komponenten und der Leitfähigkeit der Mischung wurde als Leitfähigkeitsabfall bezeichnet.

Das bei den Leitfähigkeitsmessungen beobachtete Verhalten der Borsäure zur Fruktose führte schließlich zu einer großen Reihe polarimetrischer Versuche an reinen Mono- und Disacchariden sowie an Nahrungsmitteln.

Angaben über die den Untersuchungen zu Grunde gelegten Zucker, Kohlehydrate und sonstigen Reagenzien.

Xylose, Merck.
Glukose, Saccharum amylaceum puriss. anhydricum pro infusione, Merck.
Fruktose, Laevulose, puriss. crist., Merck.
Galaktose, Kahlbaum.
Saccharose, Rohrzucker 3946 kal. pro gr., Merck.
Maltose, reinst, Schering u. Kahlbaum.
Laktose, Saccharum lactis, Milchzucker für bakteriologische Zwecke, Merck.
Raffinose, Schering u. Kahlbaum.
Lösliche Stärke, rein, Merck.
Inulin, Merck.
Dextrin puriss. alcohole praecipitat., Merck
Mannit e Manna spiritu recrist., Merck
Borsäure, Acid. boric. pur.
Borsäure, Acid. boric. crist. „pro analysi", Merck
Ammoniumborat, rein, Dr. Fraenkel u. Dr. Landau.
Primäres Kaliumphosphat nach Sörensen, Kahlbaum.

I. Untersuchung des Reduktionsvermögens wässriger, mit Alkali oder Säure behandelter Zuckerlösungen.

1. Titrationsversuche wässriger Zuckerlösungen mit 2,6-Dichlorphenolindophenol.

Bevor die Zucker nach H. von Euler (1) mit Alkali erhitzt wurden, war noch zu prüfen, wie sich die verschiedenen Zuckerarten in kalter und heißer wässriger Lösung gegenüber dem blauen Farbstoff 2,6-Dichlorphenolindophenol verhielten. Zu diesem Zweck wurde eine 0,001 n Farbstofflösung nach der im hiesigen Institut von K. Ensslin (5) angegebenen Methode hergestellt. Nach den Angaben des gleichen Autors wurde auch die Lösung durch Titration mit einer schwefelsauren 0,01 n Ferroammoniumsulfatlösung in Gegenwart von Natriumoxalat eingestellt.

Die Reduktionsversuche wurden zunächst bei Zimmertemperatur ohne Zusatz von Säure oder Alkali ausgeführt. Je 10 ccm einer 10%igen Zuckerlösung wurden mit 0,2 ccm 0,001 n 2,6-Dichlorphenolindophenolfarblösung versetzt und 24 Stunden stehen gelassen. Das Verhalten der verschiedenen Zucker zeigt folgende Tabelle:

Tabelle 1.

	Farbe sofort nach Zusetzen d. Farblösung	Nach 24-stünd. Stehen bei Zimmertemp.	Nach 72-stünd. Stehen bei Zimmertemp.
1. Glukose	blau	blau	blau
2. Fruktose	etwas heller blau	etwas heller blau	etwas heller blau
3. Laktose	rosa	rosa	farblos
4. Galaktose	rosa	rosa	farblos
5. Saccharose	blau	blau	blau
6. Maltose	entfärbt	entfärbt	entfärbt
7. Mannit	blau	blau	blau
8. Dextrin	grünlich blau	schwach grün	schwach grün

Außer bei Maltose wurde also die kleine Farbstoffmenge von den verschiedenen Zuckerarten nicht oder erst nach längerem Stehen reduziert.

Nun wurden 10 ccm einer 10%igen Zuckerlösung mit Farbstofflösung versetzt, eine bestimmte Zeit erhitzt und wiederholt Farblösung zugegeben. Hierbei zeigten sich folgende Farbveränderungen:

Tabelle 2.

	Farbe sofort n. Zusetzen von 1 ccm Farblösung	Nach 2 Min. langem Kochen	Nach weiteren 3 Min. langem Kochen	Farbe n. erneutem Zusetzen v. 5 ccm Farblösg	Weiteres Erhitzen
1. Glukose	blau	farblos	farblos	rot	nach 1 Std. schwach rot
2. Fruktose	blau	farblos	farblos	violett	nach 1 Std. über 20 ccm Farblösg. entfärbt
3. Laktose	rot	hellrot	farblos	rot	nach 1 Std. rot
4. Galaktose	rot	hellrot	farblos	blau	nach 1 Std. farblos
5. Dextrin	blau	hellgrün	farblos	blau	nach 30 Min. farblos

	Farbe sofort nach Zusetzen von 1 ccm Farblösung	Nach einstündigem Kochen
6. Saccharose	blau	hellblau
7. Mannit	blau	hellblau

Zum Vergleich wurden 10 ccm Wasser mit 1 ccm Farblösung ebenfalls eine Stunde lang gekocht, wobei die blaue Farbe etwas heller wurde. Daß bei Versuch 3 und 4 die Farbe nach rot verschoben war, ist durch die niedrige pH-Stufe zu erklären. Die beobachteten Erscheinungen sind zu unregelmäßig und zu gering, als daß darauf eine Methode zur Zukkerbestimmung gegründet werden könnte. Als weiterer Versuch hierzu wurden 10 ccm einer 10%igen wässrigen Glukoselösung bis zum Aufwallen erhitzt und dann heiß mit dem Farbstoff titriert. Hierbei wurde aber keine Farblösung verbraucht. Erst nach einem Kochen von einer Minute wurden 0,25 ccm Farblösung verbraucht. Nach beendeter Titration wurde weiter gekocht und erneut titriert, der Verbrauch an Farblösung schwankte jedesmal zwischen 0,2 und 0,25 ccm.

Tabelle 3.

	1 Min. langes Kochen	3 Min. lang. Kochen	6 Min. lang. Kochen	10 Min. lang. Kochen
Gesamtverbrauch d. Farblösg. für 10 ccm 10%ige Glukoselösung	0,25 ccm	0,45 ccm	0,65 ccm	0,9 ccm

Um eine stärkere Reduktion zu erzielen, sollten dieselben Zuckerlösungen nun mit überschüssiger Farblösung gekocht werden. Dann sollte versucht werden, die nicht verbrauchte Farblösung zurückzutitrieren. Ein Versuch zeigte jedoch, daß die Farblösung, in wässriger Verdünnung gekocht, in der Hitze nicht beständig war. Sie titrierte nicht mehr die äquivalente Menge Mohrsches Salz.

2. Titrationsversuche der mit Alkali behandelten Glukose.

A. 2,6-Dichlorphenolindophenol-Methode.

Aehnliche Versuche wurden nun in entsprechender Weise mit den Zukkern nach Zusatz von Alkali ausgeführt. Zunächst wurde die Menge des zugesetzten Alkali variiert. Folgende Versuche wurden angestellt: 20 ccm einer ½%igen Glukoselösung wurden mit je 1 ccm verschieden normaler Natronlauge eine halbe Stunde lang unter Luftzutritt gekocht, unter Stickstoff schnell abgekühlt und titriert. Dabei zeigte es sich, daß die sich bildenden, reduzierenden Stoffe gegen den Sauerstoff der Luft sehr empfindlich waren.

Tabelle 4.

	0,01 n NaOH	0,1 n NaOH	0,25 n NaOH	0,5 n NaOH	n NaOH	2,5 n NaOH
verbrauchte Farblösung in ccm	0,5	14,0	40,0	75,0	38,0	18,0

Der Umschlagspunkt der Titration war nicht deutlich zu erkennen, die Titration war im Gegensatz zu einer Askorbinsäuretitration bei stärkerer Verdünnung sehr ziehend, bei größerer Alkalikonzentration mußte vor der Titration durch Zusetzen einiger Tropfen 20%iger Essigsäure bis zur roten und dann mit etwas festem Natriumazetat bis zur blauen Reaktion des Farbstoffes gepuffert werden. Die 0,5 n Natronlauge hatte also bei diesen Versuchsbedingungen am meisten Reduktionsvermögen aus dem Zucker gebildet. Die folgenden Versuche wurden deshalb mit dieser Laugenkonzentration ausgeführt. 20 ccm einer ½%igen frisch bereiteten Glukoselösung wurden in einem 100 ccm Erlenmeyerkolben mit Kühleraufsatz mit 1 ccm 0,5 n Natronlauge verschieden lang gekocht, unter Stickstoff schnell abgekühlt, verdünnt, mit Essigsäure und Natriumazetat gepuffert, mit Farbstofflösung im Ueberschuß versetzt, drei Minuten stehen gelassen und nach Zusatz von Natriumoxalat mit Ferroammoniumsulfat zurücktitriert.

Tabelle 5.

	30 Min.	10 Min.	5 Min.	3 Min.	1 Min.
verbrauchte Farblösung in ccm	74,5	75,0	75,0	75,5	75,0

Nach eine Minute langem Kochen war also schon die höchste Farbstoffreduktion erreicht, bei weiterem Erhitzen zeigte sich keine wesentliche Aenderung mehr.

Um auf Grund dieser und weiterer Versuche eine Bestimmungsmethode zu erhalten, mußte es zu allererst einmal darauf ankommen, durch irgendwelche Behandlung einer bestimmten Menge Glukose diese Glukose dahin zu bringen, eine möglichst große Menge Farbstofflösung zu reduzieren.

Als nächster Versuch wurde also die Methode von H. von Euler (1) etwas abgeändert, d. h. der Zucker wurde in Redukton bzw. andere reduzierende Stoffe übergeführt und titriert. 20 ccm einer ½%igen Glukoselösung wurden im Wasserbad auf 90° erhitzt, mit 2 ccm 10%iger Bleiazetatlösung versetzt und unter Einleitung von Stickstoff 1,7 ccm 0,5 n Natronlauge zugesetzt. Nach einer Einwirkungszeit von 3 Minuten wurde unter weiterem Einleiten von Stickstoff mit verdünnter Schwefelsäure ganz schwach sauer gemacht und in Eiswasser gekühlt. Die Flüssigkeit mit dem Niederschlag wurde mit Wasser auf 50 ccm ergänzt, ein Fünftel davon mit Natriumazetat gepuffert, mit 20 ccm 0,001 n Farbstofflösung versetzt, Natriumoxalat zugegeben und mit 0,01 n Ferroammoniumsulfatlösung zurücktitriert. Bei den beiden ersten Versuchen verbrauchte 0,1 g Glukose 21 ccm Farblösung. Bei dem 3. Versuch wurde statt 3 Min. 10 Min. erwärmt, abgekühlt und dann erst schwach angesäuert. Hierbei wurden jedoch nur 16 ccm verbraucht, außerdem war das Ende der Titration nicht so deutlich zu erkennen, wie im ersten Fall. Beim 4. derartigen Versuch wurde genau 2 Minuten lang erhitzt, gekühlt und neutralisiert. Der Farbstoffverbrauch betrug 16 ccm. Diese Mengen Farbstofflösung kamen alle nicht an die Werte heran, die bei der Titration nach vorherigem Kochen mit 0,5 n Natronlauge erreicht worden waren (s. S. 5, Verbrauch von 75 ccm Farblösung für 0,1 g Glukose). Unter diesen, bis jetzt günstigsten Bedingungen wurden nun verschieden große Mengen Glukose mit derselben Menge Alkali 2 Minuten lang erhitzt.

Tabelle 6.

Menge d. Glukose	1,0 g	0,5 g	0,1 g	0,05 g	0,01 g
verbrauchte Farb-	75,0	87,1	75,9	23,8	2,5
lösung in ccm	76,0	87,1	74,2	25,2	3,4

Wie die Zusammenstellung zeigt, war also diese Methode für eine quantitative Bestimmung nicht geeignet, da sich die Menge des verbrauchten Farbstoffs bei verschiedener Menge Zucker nicht in demselben Verhältnis änderte.

B. Jodometrische Methode.

Diese Versuche wurden nun in der entsprechenden Weise weitergeführt, nur wurde anstelle von 0,001 n 2,6-Dichlorphenolindophenollösung und 0,01 n Ferroammoniumsulfatlösung zur Titration 0,01 n Jodlösung und 0,01 n Natriumthiosulfatlösung benutzt. Wie vorher wurde 0,1 g Glukose mit 20 ccm Wasser und 1 ccm 0,5 n Natronlauge unter Rückflußkühlung 3 Minuten gekocht, unter Stickstoff schnell abgekühlt, mit Essigsäure angesäuert und mit Natriumazetat gepuffert. Es wurden 20 ccm 0,01 n Jodlösung zugegeben und mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung unter Verwendung von Stärkelösung als Indikator zurücktitriert. In der mit Essigsäure und Natriumazetat gepufferten Lösung betrug der Verbrauch an 0,01 n Jodlösung 18 ccm. Die Titration wurde noch in schwach saurem und in stärker saurem Medium ausgeführt. Im ersten Fall säuerte ich die gekochte alkalische Lösung mit 5 Tropfen n Schwefelsäure, im zweiten Fall mit 5 ccm 30%iger Schwefelsäure an, versetzte mit 0,01 n Jodlösung und titrierte die überschüssige Jodlösung zurück. In beiden Fällen wurden 9,4 ccm 0,01 n Jodlösung verbraucht. Bei Veränderung der Glukosemenge wurden für 0,05 g Glukose 5,8 ccm 0,01 n Jodlösung, für 0,5 g Glukose 11 ccm 0,01 n Jodlösung titriert. Setzte man bei dem Versuch mit 0,1 g Glukose zuerst das Jod und dann erst die Säure zu, so war der Verbrauch fast genau wie vorher 9,5 ccm 0,01 n Jodlösung.

Im gepufferten Zustand waren von 0,1 g Glukose 18 ccm 0,01 n Jodlösung verbraucht worden. In diesem Versuch wurde nun anschließend an die Pufferung noch einmal angesäuert, der Verbrauch ging hierbei von 18 ccm auf 14,1 ccm 0,01 n Jodlösung zurück. Auch diese jodometrische Versuchsreihe zeigte erstens keine hohen Reduktionswerte für 0,1 g Glukose, zweitens stieg bei der Aenderung der Glukosemenge die verbrauchte Jodlösung nicht entsprechend an.

Soweit sich die Glukose in Alkohol löste, wurden dieselben Versuche nochmals in alkoholischer Lösung durchgeführt, sie zeigten aber die gleichen Ergebnisse wie die Versuche in wässriger Lösung.

Außerdem wurde in einem Versuch das überschüssige Jod bei der Titration nicht mit Natriumthiosulfatlösung, sondern mit 0,01 n arseniger Säurelösung zurücktitriert. Die alkalische, gekochte Zuckerlösung wurde mit 4 Tropfen Essigsäure und 1 g Natriumazetat gepuffert, mit 20 ccm 0,01 n Jodlösung versetzt und mit 0,01 n arseniger Säurelösung zurücktitriert. Hierbei wurden 18,6 ccm 0,01 n Jodlösung, also ungefähr dieselbe Menge wie bei der Rücktitration mit Natriumthiosulfat, verbraucht.

Mit den mit Alkali behandelten Zuckerlösungen wurden noch einige Messungen angestellt. Zunächst sollte die Frage beantwortet werden, inwieweit sich der Zucker bei der Behandlung mit Alkali chemisch veränderte. Die hier angestellten Polarisationsversuche zeigten deutlich das Maß der Veränderung. Die spezifische Drehung einer 1%igen Glukoselösung betrug nach Aufheben der Mutarotation durch einen Tropfen Ammoniak den normalen Wert von $+52{,}5^0$, die spezifische Drehung der Zuckerlösung war nach dem Kochen von 20 ccm 1%iger Glukoselösung mit 1 ccm 0,5 n Natronlauge im alkalischen wie auch im nachträglich angesäuerten Zustand auf den Wert 0^0 heruntergegangen. Bei der Alkalibehandlung muß also eine vollkommene Umsetzung im Glukosemolekül vor sich gegangen sein.

Schließlich wurde noch von der nach der üblichen Methode vorbereiteten alkalischen Glukoselösung, die nach Pufferung mit Essigsäure und Natriumazetat 18 ccm 0,01 n Jodlösung für 0,1 g Glukose verbrauchte, die Wasserstoffionenkonzentration in der Apparatur nach Roeder entsprechend einem pH von 5,0 ermittelt.

3. Titrationsversuche einiger, mit Alkali behandelter, anderer Zuckerarten.

Es wurde die Einwirkung von Alkali auf verschiedene andere Zucker nach den vorher besprochenen Methoden untersucht.

Zunächst wurde eine Lösung von 0,1 g Saccharose in 20 ccm Wasser verschieden lange Zeit mit verschieden starkem Alkali gekocht, unter Stickstoff schnell abgekühlt, mit Essigsäure und Natriumazetat gepuffert und mit überschüssiger 0,01 n Jodlösung versetzt. Der Ueberschuß wurde mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert.

1. Versuch: Zusetzen von 1 ccm 0,5 n Natronlauge, 5 Min. kochen lassen, Verbrauch an 0,01 n Jodlösung = 0,15 ccm.

2. Versuch: Zusetzen von 5 ccm 0,5 n Natronlauge, 5 Min. kochen lassen, Verbrauch an 0,01 n Jodlösung = 0,7 ccm.

3. Versuch: Zusetzen von 10 ccm 0,5 n Natronlauge, 15 Min. kochen lassen, Verbrauch an 0,01 n Jodlösung = 0,6 ccm.

Im Gegensatz zur Glukose wurde also Saccharose durch Kochen mit Alkali fast überhaupt nicht angegriffen. Dasselbe Ergebnis zeigten auch die mit Saccharose angestellten Polarisationsversuche, die spezifische Drehung einer 1%igen Saccharoselösung ging durch Behandlung mit Alkali (1 ccm 0,5 n NaOH auf 20 ccm 1%iger Saccharoselösung) nur von $+66{,}5^0$ auf $+60{,}0^0$ herunter.

Die Lösung von 0,1 g Laktose in 20 ccm Wasser wurde 5 Minuten lang mit 1 ccm 0,5 n Natronlauge gekocht, unter Stickstoff schnell abgekühlt, mit Essigsäure und Natriumazetat gepuffert, mit überschüssiger 0,01 n Jodlösung versetzt, mit 5 ccm 30%iger Schwefelsäure angesäuert und dann mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert. Es wurden 8,7 ccm 0,01 n Jodlösung verbraucht. Außerdem wurde die mit Alkali

behandelte Laktose mit 2,6-Dichlorphenolindophenollösung titriert, und zwar versetzte ich die wie vorher bereitete, gepufferte Lösung mit Farbstofflösung im Ueberschuß und titrierte den Ueberschuß mit Mohrscher Salzlösung zurück. Von 0,1 g Laktose wurden 35,4 ccm Farbstofflösung verbraucht. Schließlich zeigte auch noch die Polarisation, daß sich die Laktose genau wie die Glukose beim Kochen mit Alkali umsetzt und reduzierende Stoffe bildet, allerdings nicht in demselben Maße wie die Glukose. Die spezifische Drehung einer 1%igen Laktoselösung ging nach Kochen mit Alkali (1 ccm 0,5 n NaOH auf 20 ccm 1%iger Laktoselösung) von + 52,5° auf + 12° herunter.

Nach den bei der Laktose angegebenen Titrationsmethoden mit Jodlösung und mit Farbstofflösung wurden nun auch noch die Fruktose und die folgenden Zucker untersucht. Bei der Titration mit Jodlösung verbrauchte 0,1 g der mit Alkali behandelten Fruktose 14,0 ccm 0,01 n Jodlösung. Auf entsprechende Weise wurden 72,5 ccm 0,001 n Farblösung titriert. Die spezifische Drehung einer 1%igen Fruktoselösung zeigte durch Kochen mit Alkali einen Rückgang von — 90° auf 0°. Bei der Fruktose liegen also dieselben Verhältnisse vor wie bei der Glukose. Es wurden annähernd die gleichen Mengen Jodlösung und die gleichen Mengen Farbstofflösung verbraucht, bei beiden Monosacchariden verschwand das Drehungsvermögen durch Kochen mit Alkali. Auch bei der Fruktose wurden noch einmal die Farbstofftitrationen mit verschiedener Menge Zucker ausgeführt. Hierbei verbrauchte

0,5	g	Fruktose	102,0	ccm	Farbstofflösung
0,1	g	„	72,5	„	„
0,05	g	„	29,5	„	„
0,01	g	„	0	„	„

Die Ergebnisse der Versuche mit anderen Zuckern, die genau nach derselben Methode untersucht wurden, sind in folgender Tabelle neben den bis jetzt gefundenen Werten zusammengestellt:

Tabelle 7.

	ccm verbrauchte 0,001 n Farblösung	ccm verbrauchte 0,01 n Jodlösung	Spez. Drehg. einer 1%gen Zuckerlösg.	Spez. Drehg. derselben Zuckerlösg. m. Alkaligekocht
Glukose	71,3	14,1	+52,5°	0°
Fruktose	72,5	14,0	—90,9°	0°
Galaktose	71,0	13,8	+82,0°	+8°
Saccharose	0,15	—	+66,5°	+60°
Maltose	46,0	11,0	+130°	0°
Laktose	35,4	8,7	+52,5°	+12°
Raffinose	0,0	0,25	+105,0°	+105°
Dextrin	8,9	7,8	+161,0°	+132°
Inosit	0,0	0,0	—	—
Mannit	0,0	0,0	—	—

Das auf diese Weise erhaltene Reduktionsvermögen ist für eine quantitative Zuckerbestimmung nicht auszuwerten, da teilweise von verschiedenen Zuckern fast dieselbe Menge Farbstoff- bzw. Jodlösung verbraucht wurden und das Reduktionsvermögen sich nicht dem Zuckergehalt entsprechend änderte.

4. Titrationsversuche der mit Säure behandelten Zuckerlösungen.

Es ist schon oft beobachtet worden, daß bei der Einwirkung von Säuren auf Kohlehydratlösungen in der Hitze Stoffe mit hohem Reduktionsvermögen entstehen. So haben, wie schon erwähnt, in letzter Zeit T. Reichstein und R. Oppenauer (2) einen dieser stark reduzierenden Stoffe isoliert, ihn einer näheren Untersuchung unterzogen, ihn genau bestimmt und ihm den Namen Reduktinsäure gegeben. T. Reichstein und R. Oppenauer und auch H. Goldschmidt (3) haben die Reduktinsäure durch Erhitzen von Hexuronsäuren mit Mineralsäuren erhalten. Der Gedanke lag nun nahe, ähnlich wie bei dem Redukton, zunächst festzustellen, ob beim Erhitzen einiger niedrigmolekularer Kohlehydrate mit Mineralsäuren auch reduzierende Stoffe entstehen, um durch Erfassung dieses Reduktionsvermögens vielleicht zu einer quantitativen Zuckerbestimmung zu kommen. Die genannten Autoren haben die Reduktinsäure im Autoklaven hergestellt, bei diesen hier folgenden Versuchen kam es darauf an, möglichst einfache Methoden anzuwenden.

Als erster Versuch wurde 0,1 g Glukose in 10 ccm 5%iger Schwefelsäure 30 Minuten lang am Rückflußkühler gekocht, unter Einleiten von Stickstoff schnell abgekühlt, mit Sodalösung fast neutralisiert, mit Natriumazetat gepuffert, mit 0,001 n Farbstofflösung im Ueberschuß versetzt und mit 0,01 n Ferroammoniumsulfatlösung zurücktitriert. Es wurde hierbei nur 0,35 ccm Farbstofflösung verbraucht. Beim Erhitzen blieb die Glukoselösung farblos. In derselben Weise wurde der Versuch mit 0,1 g Fruktose angestellt, wobei 3,1 ccm Farbstofflösung verbraucht wurden. Beim Erhitzen nahm die Fruktoselösung eine gelbe Farbe an. Die Konzentration der Schwefelsäure wurde dann sowohl abgeschwächt wie auch erhöht. Bei ½stündigem Erhitzen ergaben sich dann folgende Reduktionswerte für 0,1 g Fruktose:

Tabelle 8.

Schwefelsäure:	1%	5%	10%
verbrauchte Farbstofflösung in ccm	0,6	3,0	9,1

Genau wie die Glukose und die Fruktose wurde als drittes Monosaccharid die Galaktose untersucht. Nach derselben Methode behandelt, wurde

von ihr keine Farbstofflösung reduziert. Aus der Zusammenstellung der Reduktionswerte für die drei mit 5%iger Schwefelsäure behandelten Monosaccharide konnte man entnehmen, daß deren Reduktionsvermögen nach der bisherigen Säurebehandlung äußerst gering war.

Tabelle 9.

	Glukose	Fruktose	Galaktose
verbrauchte Farbstofflösung in ccm für 0,1 g Zucker	0,35	3,1	0,0

5. Versuche zur Isolierung des reduzierenden Stoffes, der bei der Behandlung der Zucker mit Säure entsteht.

T. Reichstein und R. Oppenauer und hier im Institut H. Goldschmidt hatten, wie schon oben angedeutet, durch Einwirkung von Schwefelsäure auf Tetragalakturonsäure im Autoklaven beträchtliche Mengen Reduktinsäure hergestellt. Es sollte nun versucht werden, aus den bis jetzt angewandten Monosacchariden und später aus Saccharose durch Behandlung mit Schwefelsäure im Autoklaven Reduktinsäure zu erhalten. Zunächst wurden in der von H. Goldschmidt (3) angegebenen Weise je 0,1 g der verschiedenen Zucker mit 10 ccm 5%iger Schwefelsäure 15 Minuten lang im Autoklaven bei 161° und 6 Atmosphären Druck erhitzt. Die Lösungen wurden dann heiß aus dem Apparat herausgenommen, unter Einleiten von Stickstoff schnell abgekühlt, vorsichtig filtriert, die Säure fast ganz mit Soda neutralisiert, mit Natriumazetat gepuffert, mit Farbstofflösung im Ueberschuß versetzt und mit Mohrscher Salzlösung zurücktitriert. Von 0,1 g der verschiedenen Zucker wurden folgende Farbstoffmengen reduziert:

Tabelle 10.

	Glukose	Fruktose	Laktose	Galaktose	Maltose	Saccharose	Dextrin
verbr. Farblsg. in ccm	19,0	27,7	20,0	20,3	14,4	28,0	15,9

Die Reduktionswerte der einzelnen Kohlehydrate zeigten keine allzu erheblichen Unterschiede. Durch Abänderung der Versuche wurde dann angestrebt, das Reduktionsvermögen bei Glukose und Fruktose zu erhöhen. Temperatur, Druck und Erhitzungsdauer blieben konstant, verändert wurde die Konzentration der Schwefelsäure. Genau wie vorher wurden je 0,1 g Glukose und 0,1 g Fruktose mit 10 ccm verschieden starker Schwefelsäure im Autoklaven erhitzt. Die Tabelle gibt die ccm verbr. Farblösung an.

Tabelle 11.

	H_2O	H_2SO_4 1%	H_2SO_4 2,5%	H_2SO_4 5%	H_2SO_4 7,5%
Glukose	1,25	1,3	11,5	19,0	25,6
Fruktose	5,1	65,4	32,5	27,7	16,8

Die einzelnen Lösungen, besonders die der Fruktose, waren teilweise nicht zu titrieren, ohne vorher verdünnt zu werden, die Titration war außerdem oft ziemlich stark ziehend. Festgestellt wurde die auffallende Tatsache, daß je stärker ein und dieselbe Lösung verdünnt wurde, mit der stärkeren Verdünnung der Lösung auch der Farbstoffverbrauch anstieg.

Das Reduktionsvermögen wurde auch noch einmal auf jodometrische Weise folgendermaßen zu erfassen versucht. Je 0,1 g der verschiedenen Zucker wurde mit 10 ccm 1%iger Schwefelsäure 15 Minuten lang bei 6 Atmosphären im Autoklaven erhitzt, unter Stickstoff in Eiswasser schnell abgekühlt, schnell filtriert, auf 50 ccm mit Wasser verdünnt und aliquote Teile davon jodometrisch und mit Farbstofflösung titriert. Folgende Mengen Lösungen wurden von 0,1 g Zucker verbraucht:

Tabelle 12.

	Glukose	Fruktose	Laktose	Galaktose	Maltose	Saccharose	Dextrin
verbr. Farblsg.	14,2	65,4	14,7	15,7	14,25	40,5	14,2
Jodlsg. in ccm	4,2	13,5	4,0	4,5	3,15	13,0	3,5

Die Tabelle zeigte, daß Fruktose und Saccharose, die als Disaccharid beim Erhitzen mit verdünnten Säuren in Glukose und Fruktose zerfällt, die größten Reduktionswerte erreichten. Alle Versuche ergaben aber, daß das gebildete Reduktionsvermögen eine quantitative Erfassung der Zucker nicht möglich machte.

Um nun zu erfahren, welche chemische Verbindung diese Reduktionswirkung auslöste, wurde versucht, den Körper präparativ darzustellen. Die Vermutung war berechtigt, daß es sich vielleicht um Reduktinsäure handelte. Genau wie die schon genannten Autoren die Reduktinsäure aus Tetragalakturonsäure hergestellt haben, war ich bemüht, die Reduktinsäure aus Saccharose herzustellen. Wegen des niedrigen Preises ging ich von Saccharose und nicht von Fruktose aus. Zu den weiteren Versuchen wurde der im Handel befindliche feinkristallisierte Rübenzucker verwendet. Als Vorversuch wurden 50 g Rübenzucker mit 350 g 1%iger Schwefelsäure bei üblichem Druck und Temperatur im Autoklaven 15 Minuten erhitzt. Es zeigte sich, daß diese Lösung zu konzentriert an Zucker war, sodaß

ein Teil des Zuckers verbrannte, und die übrige Lösung kein großes Reduktionsvermögen mehr enthielt. Es wurden deshalb weitere Versuche gemacht mit Lösungen von 1 g Rübenzucker in 10 ccm verschieden starker Schwefelsäure und für 0,1 g Zucker folgende Reduktionswerte erhalten:

Tabelle 13.

Schwefelsäure	0,05%	0,1%	0,25%	0,5%	0,75%	1%	2%
verbrauchte Farblösung in ccm	3,1	6,0	13,6	14,0	13,0	12,4	9,2

In einer 10%igen Zuckerlösung hatten also 0,5% Schwefelsäure die meisten reduzierenden Stoffe gebildet. Um aber bei der präparativen Darstellung der reduzierenden Substanz eine möglichst günstige Ausbeute zu erhalten, kam es darauf an, reduzierende Lösungen herzustellen, die bei hohem Reduktionsvermögen einen möglichst niedrigen Gehalt an Trokkensubstanz enthielten. Je kleiner also in derselben Menge Lösung das Verhältnis von Trockensubstanz zu Reduktionsvermögen, das sog. „scheinbare Aequivalentgewicht", war, um so günstiger mußte die Ausbeute an reduzierendem Stoff sein. Es wurden noch einmal Lösungen mit 10% bzw. 1% Saccharosegehalt mit verschieden starker Säure im Autoklaven nach der vorher angegebenen Methode erhitzt. Nachdem jeweils das Reduktionsvermögen festgestellt war, wurde aus dem Trockenrückstand der Lösungen das „scheinbare Aequivalentgewicht" bestimmt.

Tabelle 14.

10%ige Saccharoselösung, Reduktionswert für 0,1 g Saccharose:

Schwefelsäure	0,25%	0,5%	0,75%	1%
verbr. Farblösung in ccm	13,6	13,6	12,5	12,5
scheinb. Aequivalentgewicht	3530	2625	3610	3320

Tabelle 15.

1%ige Saccharoselösung, Reduktionswert für 0,1 g Saccharose:

Schwefelsäure	0,5%	1%	5%	10%	15%
verbr. Farblösung in ccm	22,5	23,8	33,0	39,0	39,0
scheinb. Aequivalentgewicht	2400	2770	632	900	1115

Das verhältnismäßig größte Reduktionsvermögen bei kleinstem „scheinbaren Aequivalentgewicht" zeigte die 1%ige Zuckerlösung, die 5% Schwe-

felsäure enthielt. Die folgenden weiteren Versuche wurden also mit dieser Konzentration ausgeführt. Der in der behandelten Lösung entstandene und möglichst kristallinisch herzustellende Körper war in der Lösung nur in sehr geringer Menge festzustellen. Es kam also darauf an, den Stoff in der Lösung durch Einengen unter möglichst großer Schonung anzureichern. Ein Zeichen der Empfindlichkeit der mit Säure gespaltenen Zuckerlösung war die Tatsache, daß ihr Reduktionsvermögen über Nacht um ungefähr 20—25% abnahm, trotzdem sie im Eisschrank unter Stickstoff aufbewahrt wurde.

Zunächst mußte die Schwefelsäure aus der Lösung entfernt werden. Bei der Auswahl des zu verwendenden Bariumsalzes mußte vorsichtig vorgegangen werden. Eine andere Mineralsäure durfte nicht entstehen, da sie beim Eindampfen genau wie die Schwefelsäure den reduzierenden Stoff zerstört hätte. Bariumhydroxyd konnte zur Füllung nicht verwendet werden, da sonst zu große Mengen Aetzbarytlösung hätten zugesetzt werden müssen. Zu der schwefelsauren Lösung gab ich dann kristallisiertes Bariumkarbonat. Dieses Fällungsmittel reagierte aber zu langsam. Als die Lösung fast neutral war, war das Reduktionsvermögen zum größten Teil verschwunden. Auch der Versuch, die Säure fast ganz mit Bariumkarbonat und den Rest mit Aetzbaryt abzustumpfen, zeigte keinen Erfolg. Die Fällung mit Bleiazetat zeigte schließlich bessere Ergebnisse, es wurde hierbei folgendermaßen verfahren: 2,5 g Zucker wurden mit 250 g 5%iger Schwefelsäure 15 Minuten lang bei 6 Atmosphären und 161° im Autoklaven erhitzt, unter Stickstoff abgekühlt, durch ein Tuch koliert und auf 250 ccm wieder aufgefüllt. Von dieser Lösung wurde in einem aliquoten Teil das Reduktionsvermögen für 0,1 g Zucker mit 26 ccm Farbstofflösung festgestellt. Um zu berechnen, wieviel Bleiazetat zur Fällung der gesamten Schwefelsäure nötig war, wurde die Säure mit 0,1 n Natronlauge titriert (Methylorange als Indikator) und hieraus die benötigte Menge Bleiazetat berechnet. Die mit Säure behandelte Zuckerlösung wurde also langsam unter Umschütteln und Einleiten von Stickstoff mit einer der Menge der Säure äquivalenten 30%igen Bleiazetatlösung versetzt. Der Bleisulfatniederschlag wurde abzentrifugiert. Die neue Lösung hatte gegen die frühere kaum etwas an Reduktionsvermögen verloren, die Reaktion auf Schwefelsäure mit Bariumchlorid war allerdings noch positiv. Vielleicht hatte sich ein kleiner Teil der gesuchten Reduktinsäure bei der Fällung mit dem Blei zu wasserlöslichem, reduktinsaurem Blei verbunden. Unbeschadet der kleinen, noch vorhandenen Schwefelsäuremenge wurde die abzentrifugierte Lösung zunächst weiter behandelt. Eine kleine Menge der Lösung wurde nun in einem Erlenmeyerkolben auf dem Wasserbad unter Einleitung von Stickstoff zur Trockne eingedampft. Durch Titration des wieder aufgelösten Rückstands mit Farbstofflösung wurde festgestellt, daß das Reduktionsvermögen durch das Eindampfen auf den 10. Teil zurückgegangen war. Auch durch Einengen der

Lösung in Vakuum unter Stickstoff wurde das Reduktionsvermögen größtenteils zurstört.

Die einzige Erklärung war noch die, daß der reduzierende Stoff beim Eindampfen durch die kleinen Mengen Schwefelsäure, die sich gegen Schluß anreicherten, angegriffen wurde. Ich fügte deshalb zu der mit Säure im Autoklaven behandelten, abgekühlten Zuckerlösung Bleiazetatlösung im Ueberschuß zu, um möglichst alle Schwefelsäure zu fällen. Das überschüssige Bleiazetat und das Blei, das vielleicht an die Reduktinsäure gebunden wurde, wurde durch einstündiges Einleiten von Schwefelwasserstoff ausgefällt und abfiltriert. Die schwefelsäurefreie Lösung wurde dann ebenfalls im Vakuum unter Stickstoff eingedampft. Auch hier gingen zwei Drittel des Reduktionsvermögens verloren. Bei dem reduzierenden Stoff scheint es sich also um einen sehr wärme- und sauerstoffempfindlichen Körper zu handeln, der durch die angeführten Versuche nicht in seiner Lösung angereichert und somit nicht in kristallinischer Form erhalten werden konnte.

II. Elektrische Leitfähigkeitsmessungen und p_H-Messungen mit sauren Zuckerlösungen.

1. Leitfähigkeitsmessungen mit salzsauren Zuckerlösungen.

Die im vorigen Abschnitt dieser Arbeit vorgenommenen Versuche zeigten also, daß auf Grund der dort gefundenen Untersuchungsergebnisse keine quantitative Zuckerbestimmungsmethode aufgestellt werden konnte. Im folgenden wurde deshalb versucht, die Erscheinung des von R. Strohecker (4) gefundenen Leitfähigkeitsabfalls von sauren Zuckerlösungen zu einer quantitativen Zuckerbestimmung zu erweitern. Die von R. Strohecker angestellten Versuche wurden wiederholt, zusammengestellt und außer Salzsäure auf andere Elektrolyte und Kohlehydrate ausgedehnt. Der bereits erklärte Begriff des Leitfähigkeitsabfalls soll noch an einem Beispiel näher veranschaulicht werden. Der Leitfähigkeitsabfall berechnet sich also folgendermaßen: Leitfähigkeit einer wässrigen 5%igen Glukoselösung (L_1) + Leitfähigkeit einer 0,05 n Salzsäure (L_2) — Leitfähigkeit einer 5%igen Glukoselösung in 0,05 n Salzsäure (L_3). Also ist:

$$\text{Leitfähigkeitsabfall} = L_1 + L_2 - L_3.$$

Außer von Kohlehydraten wurde noch der Leitfähigkeitsabfall von einigen Alkoholen und anderen nicht dissoziierten Flüssigkeiten gemessen. Als Elektrolyte wurden neben Salzsäure auch noch Weinsäure und Borsäure verwendet. Als wesentlichstes Ergebnis wurde gefunden, daß sich die Leitfähigkeit der Borsäure durch Zusetzen von Fruktose außerordentlich erhöht. Nebenher angestellte p_H-Messungen standen mit der Erhöhung der Leitfähigkeit in Einklang, indem das p_H der Borsäurelösung durch Zugabe von Fruktose stark erniedrigt wurde. Es mußte sich also eine neue Verbindung zwischen Borsäure und Fruktose gebildet haben, deren Konstitutions-

ermittlung aber nicht meine Aufgabe war. Bei der polarimetrischen Untersuchung dieser Reaktion kam ich dann noch zu einer anderen Erscheinung der Fruktose-Borsäureverbindung, die im 3. Abschnitt der Dissertation eingehend untersucht wurde und zu einer neuen quantitativen Glukose-Fruktosebestimmung führte.

Die Messungen der spezifischen Leitfähigkeit wurden mit der von Kohlrausch angegebenen Apparatur ausgeführt. Alle Lösungen wurden bei einer Temperatur von 20^0 gemessen. Zuerst wurde durch wiederholte Bestimmungen die Leitfähigkeit der 0,05 n Salzsäure zu $175{,}8 \times 10^{-4}$ festgelegt. Die salzsaure Glukoselösung wurde nun in der Weise bereitet, daß 5 g Glukose auf der analytischen Waage abgewogen wurden und in einem 100 ccm-Meßkolben in ungefähr 50 ccm Wasser gelöst wurden. Dann setzte ich 25 ccm 0,2 n Salzsäure zu und füllte auf 100 ccm mit Wasser auf. Die spezifische Leitfähigkeit dieser Lösung betrug dann bei 20^0 $161{,}8 \times 10^{-4}$. Diese Zahl wurde von der Summe der Leitfähigkeit von 5 g Glukose in 100 ccm Wasser — sie betrug $0{,}082 \times 10^{-4}$ — und der Leitfähigkeit der 0,05 n Salzsäure $175{,}8 \times 10^{-4}$, also zusammen aufgerundet $175{,}9 \times 10^{-4}$, abgezogen. Für die angewandten Konzentrationen betrug also der Abfall der Glukose $14{,}1 \times 10^{-4}$. In derselben Weise wurde der Leitfähigkeitsabfall der in der Tabelle angeführten, anderen löslichen Kohlehydrate gemessen, nachdem vorher der anhaftende Wassergehalt der einzelnen Zucker bestimmt worden war. Die angegebenen Leitfähigkeiten und Leitfähigkeitsabfälle sind für Zucker ohne anhaftendes Wasser berechnet. Alle Versuche wurden zwei- oder mehreremale ausgeführt und das Mittel angegeben.

Tabelle 16.

	Leitfähigkeit der wässrigen Zuckerlösung $\times 10^{-4}$	Leitfähigkeit der salzsauren Zuckerlösung $\times 10^{-4}$	Leitfähigkeitsabfall $\times 10^{-4}$
Xylose	0,141	161,5	14,4
Glukose	0,082	161,8	14,1
Fruktose	0,049	160,0	15,8
Galaktose	0,26	161,8	14,3
Saccharose	0,061	161,45	14,4
Maltose	1,09	160,6	16,3
Laktose	0,24	162,4	13,6
Raffinose	0,039	162,0	13,8
lösl. Stärke	1,8	161,8	15,8
Inulin	15,58	106,3	85,1
Dextrin	2,8	155,0	23,6
Mannit	0,07	161,7	14,2
Apfelpektin	3,7	111,5	68,0
Citruspektin	4,6	90,4	90,0

Aus Versuchen, in denen bei sonst gleichen Verhältnissen nur die Menge der Glukose verändert wurde, konnte man auf die Abhängigkeit des Leitfähigkeitsabfalls von der Menge der Glukose schließen.

Tabelle 17.

Glukose:	0,1%	1%	2,5%	5%	7,5%
Leitfähigkeitsabfall $\times 10^{-4}$	(0,7)	3,5	7,7	14,7	23,1

Um festzustellen, ob die Größe des Abfalls vielleicht von der Größe des zugesetzten Moleküls abhängig war, wurde der Leitfähigkeitsabfall noch von weiteren, nicht dissoziierten Stoffen gemessen. Die Versuche wurden genau wie bei den Kohlehydraten angestellt. Statt des Zuckers wurden je 5 g des zu untersuchenden Stoffs verwendet. Die Leitfähigkeitsabfälle sind aus folgender Zusammenstellung zu ersehen:

Tabelle 18.

	Leitfähigkeit der wässrigen 5%igen Lösung $\times 10^{-4}$	Leitfähigkeit der sauren Lösung $\times 10^{-4}$	Leitfähigkeitsabfall $\times 10^{-4}$
Methylalkohol	0,037	156,4	19,4
abs. Aethylalkohol	0,042	152,8	23,0
Azeton	0,1	157,1	18,8
Isopropylalkohol	0,04	163,7	12,1
Essigester	0,038	173,1	2,7
Glyzerin	0,082	156,7	19,2

Die Größe des Leitfähigkeitsabfalls ist also sehr wahrscheinlich nicht abhängig von der Größe des Moleküls des zugesetzten Körpers. In unseren Versuchen konnte aber festgestellt werden, daß die Leitfähigkeit einer Salzsäure herabgedrückt wurde durch Zugabe eines Stoffes, der selbst nur eine geringe Leitfähigkeit besaß, bzw. nicht dissoziiert war.

2. Der Einfluß der Zucker auf das p_H von sauren Lösungen.

Um die Frage zu beantworten, wie sich das pH einer Säurelösung durch Zusatz z. B. eines Zuckers verändert, wurden pH-Messungen mit der Apparatur nach Roeder und mit der Poggendorfschen Versuchsanordnung neben den Leitfähigkeitsmessungen ausgeführt. Das pH einer 0,05 n Salzsäure betrug 1,29 und das pH einer 5%igen wässrigen Glukoselösung 4,30. Durch Zusetzen von 5% Glukose veränderte sich das pH der Salzsäure nicht, es behielt weiter den Wert von 1,29. Ebenso verhielt sich die Salzsäure durch Zusetzen von 5% Saccharose, deren pH vorher in 5%iger wässriger Lösung 5,78 betrug. Durch Zugabe eines Zuckers wurde also das pH einer Säure nicht verändert. Dieselbe Erscheinung war auch noch bei einigen

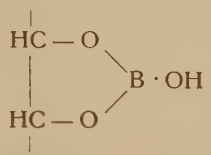
Versuchen mit Getränken festzustellen. Das $p_H = 3{,}27$ eines Pfälzer Weißweins wurde durch einen Saccharosezusatz von 5% nicht verändert. Ebenso verhielt sich die Wasserstoffionenkonzentration bei einem Moselwein ($p_H = 2{,}99$), bei einem Tarragona-Südwein ($p_H = 3{,}37$) und bei Zitronenwasser. Das p_H des Zitronenwassers, zu dessen Herstellung eine Zitrone auf 250 ccm Wasser verwendet wurde, blieb beim Zusetzen von 10% Saccharose konstant ($p_H = 2{,}58$). Der Geschmack der Weißweine bzw. des Zitronenwassers verhielt sich natürlich in ganz anderer Weise. Die Weißweine schmeckten durch das Zufügen des Zuckers nicht mehr so säuerlich wie vorher, besonders deutlich konnte man das auch bei dem Zitronenwasser feststellen. Ungezuckert war es wegen der Säure fast ungenießbar, durch Zuckerzusatz wurde es zu einem weniger sauer schmeckenden Getränk. Das Eigenartige ist also, daß der Eindruck auf die Geschmacksnerven bei derselben Wasserstoffionenkonzentration der Lösung ganz verschieden sein kann.

3. Leitfähigkeitsmessungen mit weinsauren Zuckerlösungen.

Die ausgeführten Leitfähigkeitsmessungen wurden noch einmal mit 0,05 n Weinsäure in derselben Weise wie mit Salzsäure wiederholt. Da die Leitfähigkeit der 0,05 n Weinsäure aber nur einen Wert von $15{,}34 \times 10^{-4}$ hatte, so waren die Leitfähigkeitsabfälle entsprechend gering. Die Versuche mit weinsauren Zuckerlösungen zeigten ähnliche, nur entsprechend geringere Leitfähigkeitsabfälle wie die salzsauren Zuckerlösungen. Die Weinsäuremessungen wurden deshalb bald unterbrochen, um zu entsprechenden Versuchen mit Borsäure überzugehen.

4. Leitfähigkeitsmessungen mit borsauren Zuckerlösungen.

Wie schon in der Einleitung zu diesem Abschnitt erwähnt wurde, zeigte die Leitfähigkeit der Borsäure bei Zusatz von Kohlehydraten nicht immer einen Abfall, sondern auch teilweise starke Erhöhungen. Versuche mit Borsäure und Kohlehydraten sind schon von B o e s e k e n (6) ausgeführt worden. Er zeigte, daß in der Regel nur solche Zucker mit Borsäure zu Borsäureestern vom Typus



zusammentreten und die Leitfähigkeit einer Borsäurelösung erhöhen, die zwei benachbarte Hydroxyle cis-ständig enthalten. Das Leitfähigkeitsvermögen einer Borsäure-α-Glukoselösung sinkt unmittelbar nach dem Zusammenbringen der Komponenten, während dasjenige einer Borsäure-β-Glukoselösung steigt. In der α-Glukose müßten darum 2 cis-ständige Hydroxyle

enthalten sein, in der β-Glukose nicht. In dem Maße, wie die Umlagerung der α- und β--Form ineinander erfolgt, nähern sich die Leitfähigkeiten der beiden Lösungen. Auf diese, von Boeseken angegebenen Eigenschaften der Borsäure-Zuckerester wurde vorläufig nicht näher eingegangen. Genau wie mit salzsauren Zuckerlösungen wurden jetzt systematisch in derselben Weise mit borsauren Zuckerlösungen Untersuchungen angestellt. Die Leitfähigkeit einer wässrigen 2%igen Borsäurelösung war verhältnismäßig gering, sie wurde im Durchschnitt zu 69,01 × 10^{-6} gemessen. Bei den Zuckerarten, die in ihrem Verhalten zur Borsäure untersucht wurden, beschränkte ich mich nur auf Glukose, Fruktose, Saccharose und Laktose. Von diesen Kohlehydraten wurden wieder, genau wie bei den Salzsäuremessungen, je 5 g abgewogen und in einem Meßkolben mit der 2%igen Borsäurelösung auf 100 ccm aufgelöst. Sofort nach der Herstellung der Lösung wurde die Leitfähigkeit gemessen, die Messung einer Lösung wurde aber von Zeit zu Zeit während mehrerer Stunden wiederholt und hierbei eine Veränderung der Leitfähigkeit festgestellt, die mit den Befunden von Boeseken in Einklang stand. Folgende Zusammenstellung zeigt die Leitfähigkeiten der zu fünf Prozent in 2%iger Borsäurelösung gelösten Zucker.

Leitfähigkeit der Borsäurelösung: 69,01 × 10^{-6}.

Leitfähigkeit der wässrigen Zuckerlösungen: s. Tab. 16.

Tabelle 19.

	sofort nach Herstellung d. Lösung.	nach 15 Stunden	nach 36 Stunden
	× 10^{-6}	× 10^{-6}	× 10^{-6}
Glukose	68,7	65,93	67,0
Fruktose	350,6	349,2	349,2
Saccharose	61,25	60,62	61,12
Laktose	75,15	76,97	76,68

Deutlicher läßt sich die durch Borsäurezusatz hervorgerufene Veränderung erkennen, wenn man die Zunahme und Abnahme der Leitfähigkeit gegenüber der Leitfähigkeit der reinen Borsäurelösung und Zuckerlösung berücksichtigt.

Tabelle 20.

	sofort nach Herstellung der Lösung $\times 10^{-6}$	nach 15 Stunden $\times 10^{-6}$	nach 36 Stunden $\times 10^{-6}$
Glukose	—8,51	— 11,28	— 10,21
Fruktose	+ 276,69	+ 275,29	+ 275,29
Saccharose	—13,86	— 14,49	— 13,99
Laktose	—17,86	— 16,04	— 16,33

Diese Leitfähigkeitsmessungen wurden noch einmal wiederholt, nur wurde statt einer 2%igen Borsäurelösung eine 3%ige Borsäurelösung zum Auflösen der Zucker verwendet. Die reine 3%ige Borsäurelösung hatte praktisch dieselbe Leitfähigkeit (69,03 $\times$ 10^{-6}) wie die 2%ige Borsäurelösung. Wie aus Tabelle 21 hervorgeht, ist bei dieser Konzentration die Zunahme der Leitfähigkeit der borsauren Fruktoselösung noch größer als im vorherigen Falle.

Tabelle 21.

	sofort nach Herstellung der Lösung $\times 10^{-6}$	nach 90 Minuten $\times 10^{-6}$	nach 3 Stunden $\times 10^{-6}$
Glukose	— 1,48	— 5,51	— 6,27
Fruktose	+ 355,57	+ 355,23	+ 354,67
Saccharose	— 10,49	— 11,40	— 11,34
Laktose	— 16,33	— 14,48	— 14,57

Aus den beiden letzten Tabellen ist zu sehen, daß sich wahrscheinlich zwischen Borsäure und Fruktose eine neue chemische Verbindung gebildet haben wird, nämlich ein ziemlich stark dissoziierter Körper, der in seiner Lösung den elektrischen Strom bedeutend besser leitet als die beiden Komponenten, aus denen er entstanden ist.

5. P_H-Messungen der borsauren Zuckerlösungen.

Es lag die Vermutung nahe, daß der betreffende Körper eine Verbindung darstellte, die den Ueberlegungen von Boeseken (6) entsprach. Wenn aber eine saure Verbindung bzw. eine Säure gebildet worden ist, so mußte der p_H-Wert erniedrigt sein. Mit der Chinhydronelektrode und der Kalomelelektrode wurden p_H-Messungen mit 3%iger Borsäurelösung und 5%iger Fruktoselösung und entsprechender borsaurer Fruktoselösung ausgeführt. Das p_H der 3%igen Borsäurelösung betrug 5,18, das pH der 5%igen wässrigen Fruktoselösung 4,85. Eine 5%ige Lösung von Fruktose in 3%iger Borsäurelösung zeigte aber das p_H = 2,84, eine sehr deutliche Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration nach dem sauren Gebiet

hin. In kleinerem Maße zeigte allerdings auch eine borsaure Glukoselösung eine Verschiebung der pH-Stufe, und zwar wurde für reine Borsäurelösung pH = 5,18, für reine 5%ige Glukoselösung pH = 5,98 und für borsaure Glukoselösung in üblicher Konzentration pH = 3,7 gemessen.

6. Titrationen der borsauren Zuckerlösungen mit Alkali.

Auf der sauren Reaktion der Borsäure-Fruktoseverbindung versuchte ich nun, eine quantitative, acidimetrische Bestimmungsmethode für Fruktose aufzubauen. Der Gedanke lag nahe, die borsaure Fruktoselösung einfach mit 0,1 n Natronlauge zu titrieren. Aehnliche Methoden sind schon lange bekannt, so wird in der „amtlichen Anweisung zur Untersuchung des Weins" eine quantitative Borsäurebestimmungsmethode empfohlen. Durch Versetzen der Borsäure mit Mannit oder Glyzerin entsteht eine saure Verbindung, die mit Lauge titrierbar ist. Um eine borsaure Fruktoselösung titrieren zu können, mußte ich vorher feststellen, wieviel Lauge jede dieser beiden Komponenten bei einer Titration für sich verbrauchte. Als Indikator eignete sich vorläufig Phenolphthalein. 20 ccm einer 3%igen Borsäurelösung verbrauchten 14,3 ccm 0,1 n Natronlauge. Eine Fruktoselösung verbrauchte überhaupt keine Natronlauge, schon der erste Tropfen Lauge genügte zur deutlichen Rotfärbung der Lösung. 20 ccm einer Lösung, die 3% Borsäure und 5% Fruktose enthielten, verbrauchten 50,0 ccm 0,1 n NaOH. Hiervon wurden 14,3 ccm für die Borsäure abgezogen, so daß 1 g Fruktose 35,7 ccm 0,1 n Natronlage verbrauchte. Bei konstanter Borsäurekonzentration wurde in den nächsten Versuchen die Konzentration der Fruktose geändert, und zwar wurden je 20 ccm 3%ige Borsäurelösung titriert, die verschiedene Fruktosemengen enthielten. Von dem Wert der verbrauchten 0,1 n Natronlauge wurden dann noch jeweils 14,3 ccm für den Verbrauch der Borsäure abgezogen. Folgende Werte wurden dann im Durchschnitt gefunden:

0,25	g	Fruktose	verbrauchte	8,5	ccm	0,1 n	NaOH
0,5	g	„	„	18,2	„	0,1 n	„
1,0	g	„	„	35,9	„	0,1 n	„
2,0	g	„	„	58,7	„	0,1 n	„

Bei einer Konzentration der Lösung, die mehr als 5% Fruktose (1 g in 20 ccm) neben 3% Borsäure enthielt, genügte die Borsäuremenge scheinbar nicht mehr, um die ganze Menge der Fruktose in der bis jetzt üblichen Weise umzusetzen. Der Endpunkt der Titration war nicht immer genau festzustellen, es wurde deshalb von jetzt ab mehr Phenolphthalein zur Untersuchungslösung zugesetzt. (Ein Tropfen Phenolphthaleinlösung für 10 ccm Lösung). Es wurde von jetzt ab auch nur die reinste Borsäure „pro analysi" verwendet. Dadurch verbrauchten 20 ccm 3%ige Borsäurelösung jetzt nur noch 10,2 ccm 0,1 n Natronlauge. Die Fruktose wurde nun erneut

wie vorher, nur in reinster Borsäurelösung titriert und etwas niedrigere Werte gefunden:

0,25	g	Fruktose	verbrauchte	8,0	ccm	0,1 n NaOH
0,5	g	„	„	15,4	„	0,1 n „
1	g	„	„	29,6	„	0,1 n „
2	g	„	„	52,6	„	0,1 n „

Die Fruktose wurde schließlich noch auf folgende Weise zu bestimmen versucht: 20 ccm 3%ige Borsäurelösung wurden mit 0,1 n Natronlauge titriert, dann erst 1 g Fruktose zugegeben und weiter mit 0,1 n Natronlauge titriert. Der weitere Verbrauch von Natronlauge für 1 g Fruktose betrug hier 31,9 ccm, also kein wesentlicher Unterschied zu den vorhergehenden Titrationen.

Durch Verbesserung dieser Methoden wäre es vielleicht möglich gewesen, eine quantitative Bestimmungsmethode für reine Fruktoselösungen zu finden. In den folgenden Versuchen zeigte es sich aber, daß die Methode in Gegenwart von Glukose versagen mußte.

Vorher wurde aber noch das Verhalten einer Saccharose-Borsäurelösung gegenüber 0,1 n Natronlauge geprüft. Hierbei wurde gefunden, daß die Gegenwart von Saccharose bei einer Fruktosetitration nicht stört. Ein Gramm Saccharose in 20 ccm 3%iger Borsäurelösung verbrauchte nach Abzug der für die Neutralisation der Borsäure nötigen Menge Alkali nur 0,1 ccm 0,1 n Natronlauge.

Ebenso wie bei der Fruktose wurde für Glukose in reiner wässriger Lösung keine Natronlauge verbraucht. Es wurden nun je 20 ccm 3%ige Borsäurelösung, die verschiedene Mengen Glukose enthielten, mit 0,1 n Natronlauge titriert und von dem Endwert der Wert 10,2 für den Laugenverbrauch der Borsäure abgezogen. Hierbei wurden für Glukose folgende Werte gefunden:

0,25	g	Glukose	verbrauchte	4,0	ccm	0,1 n NaOH
0,5	g	„	„	6,3	„	0,1 n „
1,0	g	„	„	14,0	„	0,1 n „
2,0	g	„	„	17,9	„	0,1 n „

Die Titration war wieder gegen Schluß stark ziehend, die rote Farbe des Phenolphthaleins verschwand immer wieder nach kurzer Zeit. Die borsaure Glukoselösung war also auch mit Natronlauge zu titrieren, der Verbrauch an Natronlauge war nur halb so groß wie bei der Fruktose. Diese saure Eigenschaft der borsauren Glukoselösung läßt sich ja auch mit ihrem Verhalten beim Messen der Wasserstoffionenkonzentration vereinbaren. Das pH einer Glukoselösung fiel durch Zusetzen von Borsäure ebenfalls von 5,9 auf 3,7 ab, wenn auch nicht in demselben Maße wie die Fruktoselösung von 4,85 auf 2,84.

Um bei einer Glukose-Fruktose-Borsäuretitration nur die Fruktose zu erfassen, versuchte ich, die Fruktose stufentitrimetrisch zwischen dem pH 2,84

der borsauren Fruktoselösung und dem pH 3,7 der borsauren Glukoselösung zu titrieren. Ich mußte mir also Indikatoren suchen, die in der Nähe des $p_H = 3,7$ in ihrer Farbe umschlugen. Es wurden vier Indikatoren, nämlich Methylorange, Phenolphthalein, p-Benzolsulfonsäure-azo-α-naphthylamin und Bromphenolblau auf ihre Brauchbarkeit untersucht. Zuerst wurden je 20 ccm 3%ige Borsäurelösung mit 0,1 n Natronlauge nacheinander in Gegenwart der einzelnen Indikatoren titriert. Der Verbrauch an 0,1 n NaOH war in Gegenwart von Phenolphthalein 10,2 ccm, Methylorange 0 ccm, p-Benzolsulfonsäure-azo-α-naphthylamin 0,35 ccm und Bromphenolblau 0 ccm. Wurden nun je 0,5 g Fruktose in 20 ccm 3%iger Borsäurelösung aufgelöst, und nacheinander die vier verschiedenen Indikatoren benutzt, so betrug die Menge der verbrauchten 0,1 n Natronlauge, nach Abzug der von der Borsäure verbrauchten Menge, bei Phenolphthalein 15,4 ccm, Methylorange 0,55 ccm, p-Benzolsulfonsäure-azo-α-naphthylamin 6,15 ccm und Bromphenolblau 1,05 ccm. Für 0,5 g Fruktose war der Verbrauch bei einer Stufentitration bis zum $pH = 3,7$ sehr gering.

Eine Fruktosebestimmung durch Titration mit Natronlauge war in borsaurer Lösung in Gegenwart von Glukose nicht möglich. Denn da sowohl die Fruktose wie auch die Glukose Natronlauge zur Neutralisation verbrauchten, und beide Zucker in verschiedener Menge, hätte man mit 2 unbekannten Größen zu rechnen, von denen nur eine bestimmbar ist.

Dagegen ist eine Bestimmung der Fruktose in Gegenwart von Saccharose wohl möglich, sofern der Fruktosegehalt der Lösung innerhalb 1,25% bis 5% liegt.

Eine Stufentitration der Fruktose ist nicht durchführbar, weil die pH-Stufen der borsauren Fruktoselösung und der borsauren Glukoselösung auch nicht konstant sind, sondern sich je nach dem Mengenverhältnis zwischen Borsäure und Fruktose einerseits und Borsäure und Glukose andererseits ändern können.

III. Polarimetrische Glukose- und Fruktosebestimmung in gepufferter Ammoniumboratlösung.

1. Vorversuche.

A. Polarisationen von borsauren Glukose- und Fruktoselösungen mit Ammoniakzusatz.

Als wichtigstes Untersuchungsergebnis des vorhergehenden Abschnitts wurde gefunden, daß sich die Leitfähigkeit einer Borsäurelösung durch den Zusatz von Fruktose in geeigneter Konzentration vervielfacht, und daß sich in entsprechender Weise die Wasserstoffionenkonzentration erhöht. Es

wurde nun untersucht, wie sich die polarimetrische spezifische Drehung einer Fruktoselösung durch den Zusatz von Borsäure verändert.

Allgemein ist noch vorauszuschicken, daß alle Polarisationen mit einem Polarimeter von Schmidt u. Haensch mit einer elektr. Natriumkleinlampe als Lichtquelle ausgeführt wurden. Alle Lösungen wurden im 20 cm-Rohr bei einer Temperatur von 20° gemessen. Wurden Lösungen im Ablauf einiger Zeit mehrmals polarisiert, so wurden die Lösungen während der Messungen bei Zimmertemperatur aufbewahrt, über Nacht jedoch im Eisschrank aufgehoben, um allen Zersetzungen der empfindlichen Zuckerlösungen zuvorzukommen. Diese abgekühlten Lösungen wurden vor der erneuten Polarisation immer erst wieder auf die Temperatur von 20° gebracht. Nach kurzer Zeit konnten dann mit einiger Uebung die Polarisationen auf 0,01° bis 0,02° genau abgelesen werden. Die Ablesung derselben Lösung wurde trotzdem so oft wiederholt, bis aus mehreren Werten ein Durchschnittswert erhalten wurde. Im folgenden ist unter einer 10%igen Lösung immer eine Lösung zu verstehen, die 10 g Substanz in 100 ccm Lösung enthält.

Die spezifische Drehung einer 1%igen wässrigen Fruktoselösung betrug etwa —90°, nachdem die Mutarotation der Fruktose vorher durch längeres Stehenlassen oder durch einen Tropfen Ammoniaklösung aufgehoben war. Trotzdem die Merckssche Fruktose puriss. zu den Untersuchungen verwendet wurde, konnten höhere Werte nur selten erreicht werden. In der Literatur wird für die spezifische Drehung der Fruktose meistens der Wert von —92° angegeben. Eine Wasserbestimmung der Fruktose war schwer durchführbar, im Trockenschrank bei 105° sinterte die Fruktose zusammen (F: 102—104°) und gab kein Wasser mehr ab. Auch durch längeres Aufbewahren der Fruktose im Vakuumexsikkator konnte nur ein Wassergehalt von 0,32% nachgewiesen werden.

Von einer Fruktoselösung, die 10 g Fruktose in 100 ccm Wasser enthielt und bei der die Mutarotation durch längeres Stehen aufgehoben war, wurden nun 2,5 ccm also 0,25 g Fruktose mit 2,5 ccm Wasser verdünnt und 20 ccm 3%iger Borsäurelösung hinzugegeben. Diese Lösung enthielt jetzt 1% Fruktose und 2,4% Borsäure. Die spezifische Drehung dieser Lösung betrug genau wie die wässrige Lösung der Fruktose —90°. Die Polarisation einer wässrigen 1%igen Fruktoselösung wurde also durch den Zusatz von Borsäure nicht geändert, trotzdem sich die Leitfähigkeit und die Wasserstoffionenkonzentration, wie aus früheren Versuchen hervorgeht, erhöht hatten. Bei weiteren Untersuchungen auf diesem Gebiet konnte dann eine Verminderung der Fruktosedrehung durch Borsäure in Gegenwart von Ammoniak festgestellt werden. Diese Erscheinung wurde der Ausgangspunkt zu weiteren Untersuchungen, die zu einer neuen, quantitativen, polarimetrischen Bestimmungsmethode führten, mit deren Hilfe Glukose und

Fruktose nebeneinander bestimmt werden können. Bei einer wässrigen 1%igen Fruktoselösung wurde die Mutarotation durch Zusatz von Ammoniak aufgehoben. Es wurde nun das Verhalten einer solchen Lösung gegenüber Borsäure untersucht. 2,5 ccm einer 10%igen, noch mutarotierenden Fruktoselösung wurden mit 2,5 ccm Wasser verdünnt, mit einigen Tropfen Ammoniak und mit 20 ccm 3%iger Borsäurelösung versetzt. Die spezifische Drehung der Fruktose ging hierbei auf den Wert -47^0 zurück. Die Annahme, daß die Fruktose vielleicht durch das Ammoniak in Mitleidenschaft gezogen würde, war bei der bekannten Empfindlichkeit der Monosaccharide gegen Alkali berechtigt. Es wurden deshalb zu wässrigen Fruktoselösungen verschiedene Mengen Ammoniakflüssigkeit zugesetzt. Hierbei wurde aber nur eine geringe Verminderung der spezifischen Drehung der Fruktose festgestellt. Die Gegenwart von 1 Tropfen Ammoniaklösung in 25 ccm 1%iger Fruktoselösung hatte auf die spezifische Drehung der Fruktose noch keinen Einfluß (-90^0). 5 Tropfen Ammoniaklösung (Dichte = 0,91) bewirkten eine Verminderung der spezifischen Drehung auf $-88{,}7^0$, 10 Tropfen Ammoniaklösung auf $-87{,}49^0$. Wenn auch die Fruktose sichtlich durch die Ammoniaklösung etwas angegriffen wurde, so konnte durch sie die spezifische Drehung doch nicht bis beinahe um die Hälfte vermindert werden. Aus den beiden folgenden Versuchen ging auch deutlich hervor, daß die Borsäure die Verringerung der spezifischen Drehung der Fruktose bewirkte, allerdings nur, wenn Ammoniak in der Lösung vorhanden war. 25 ccm einer Lösung, die 1% Fruktose und 2,4% Borsäure enthielten, wurden durch einen Tropfen Ammoniaklösung in ihrer spezifischen Drehung auf $-80{,}5^0$ herabgedrückt, durch 5 Tropfen Ammoniaklösung schon auf den Wert $-42{,}5^0$. Die Menge des Ammoniaks war also ebenfalls ausschlaggebend für das Maß der Verringerung der spezifischen Drehung.

Zum Vergleich wurde nun Glukose in entsprechender Weise untersucht. Nach Beendigung der Mutarotation zeigte die zu den Untersuchungen benutzte Glukose die spezifische Drehung von $+52{,}5^0$, ein Wert, der den Literaturangaben entspricht. Eine Lösung, die 1% Glukose und 3% Borsäure enthielt, zeigte bei der Polarisation deutliche Mutarotation, nach einigen Stunden war die spezifische Drehung der Glukose auf $+52{,}5^0$ heruntergegangen. Die Glukose wurde also genau wie die Fruktose in ihrer Drehung von Borsäure allein nicht beeinflußt. Durch Zusetzen eines Tropfens Ammoniaklösung zu einer borsauren Glukoselösung wurde die Mutarotation sofort aufgehoben, die spezifische Drehung der Glukose blieb nahezu konstant ($+52{,}0^0$), im Gegensatz zur Fruktose, bei der in diesem Fall eine Verringerung der spezifischen Drehung beobachtet worden war. In den nächsten Versuchen kam es darauf an, der Glukose und der Fruktose ein bestimmtes Mengenverhältnis von Borsäure und Ammoniak zu-

zusetzen, wodurch die spezifische Drehung der Glukose möglichst auf dem Wert $+52{,}5^0$ erhalten blieb, während die spezifische Drehung der Fruktose möglichst weit und konstant herabgedrückt werden sollte. Aus der Verminderung der Linksdrehung einer Glukose-Fruktoselösung durch Zusatz von Ammoniak und Borsäure hätte man dann auf die vorliegende Menge der Fruktose und hieraus wieder auf die Menge der Glukose schließen können.

Wie schon weiter oben erwähnt wurde, war die Menge des Ammoniaks ausschlaggebend für das Maß der Verringerung der spezifischen Drehung der borsauren Fruktoselösung. 1 Tropfen Ammoniaklösung hatte die spezifische Drehung schon um ungefähr 10^0 verringert. Der Zusatz von geringen Mengen Ammoniak hatte also auf die spezifische Drehung der borsauren Fruktoselösung schon großen Einfluß. Es wurden deshalb noch Versuche mit verrdünnter 5%iger Ammoniaklösung angestellt, aber selbst diese verdünnte Lösung war nicht genau genug abzumessen, um zu konstanten Werten für die verminderte spezifische Drehung der Fruktose zu kommen.

B. Polarisationen von Glukose und Fruktose in Ammoniumboratlösungen.

Bis jetzt wurde die Borsäurelösung und die Ammoniaklösung getrennt nacheinander der Zuckerlösung zugesetzt. Zweckmäßiger erschien es, von einer primären Ammoniumboratlösung auszugehen (3 ccm Ammoniaklösung [Dichte = 0,91] + 3 g Borsäure in 100 ccm Wasser). Diese Lösung zeigte noch deutlich Ammoniakgeruch, obwohl das tertiäre Salz noch nicht vorlag. 20 ccm dieser Lösung wurden nun zu je 5 ccm wässriger 5%iger Fruktoselösung und Glukoselösung zugefügt. Die spezifische Drehung der Fruktose war auf -27^0, die spezifische Drehung der Glukose allerdings ebenfalls auf $+3^0$ erniedrigt worden. Vermutlich wurde die Glukose durch die erhöhte Alkalität zerstört. Da es darauf ankam, nur die Polarisation der Fruktose zu ändern, diejenige der Glukose aber konstant zu lassen, mußte ein anderer Weg gewählt werden. Es wurde eine weitere ammoniakalische 3%ige Borsäurelösung hergestellt (Lösung A), die 5 Tropfen Ammoniaklösung (Dichte = 0,91) auf 20 ccm enthielt. Einer spezifischen Drehung der Fruktose von -39^0 stand hier die Drehung der Glukose mit $+39^0$ gegenüber. Die Glukose wurde durch die Alkalität immer noch zu sehr angegriffen. Die Lösung A wurde deshalb mit gleichen Teilen 3%iger Borsäurelösung verdünnt, sodaß noch 2,5 Tropfen Ammoniaklösung auf 20 ccm Lösung kamen. (Lösung B). Gegen diese Lösung zeigte sich die Glukose schon etwas widerstandsfähiger, ihre spezifische Drehung wurde jetzt mit $+46^0$ gemessen, die spezifische Drehung der Fruktose betrug -41^0. Um die Glukose noch mehr zu schonen, wurde noch eine dritte ammonikalische Borsäurelösung hergestellt, wieder aus gleichen Teilen Lö-

sung B und 3%iger Borsäurelösung, wodurch jetzt nur noch 1,25 Tropfen Ammoniaklösung auf 20 ccm kamen. Diese 3. Lösung bewirkte bei der spezifischen Drehung der Glukose zwar nur eine kleine Verminderung auf $+ 50^0$, aber die Verringerung der Fruktosedrehung auf $- 65^0$ war nicht groß genug. Die Versuche mit den mit Ammoniak versetzten Borsäurelösungen wurden deshalb aufgegeben.

Die Zucker wurden jetzt mit Lösungen von reinem Ammoniumboratsalz (s. S. 2) versetzt. Das von mir benutzte Ammoniumborat war ein feinkristallisiertes Pulver. Mit heißem Wasser wurde eine Lösung von 5 g Ammoniumborat in 100 ccm Wasser hergestellt, die nach dem Erkalten filtriert wurde. Ich versuchte zunächst, die größtmögliche Menge der Ammoniumboratlösung zu finden, die einer bestimmten Menge Glukose zugesetzt werden kann, ohne sie in ihrer spezifischen Drehung zu beeinflussen. Es wurden Lösungen polarisiert, die in 100 ccm neben 1 g Glukose die in der folgenden kleinen Tabelle angegebenen Mengen Ammoniumborat enthielten.

Tabelle 22.

g Ammoniumborat:	2	1	0,5	0,2	0,1
Spez. Drehg. der Glukose	$+ 29{,}5^0$	$+ 34^0$	$+ 42^0$	$+ 47^0$	$+ 49{,}5^0$

Sogar bei dem kleinsten Zusatz von Ammoniumborat blieb die Glukose nicht ganz unverändert. Der Grund für dieses Verhalten war in der alkalischen Reaktion der Lösung zu suchen. Die Glukoselösung, die 0,2% Ammoniumborat enthielt, besaß nämlich eine p_H-Stufe von 7,7. Eine solche hohe p_H-Stufe ist der Glukose bei ihrer Empfindlichkeit gegen Alkalität bestimmt nicht zuträglich. Auch bei der Polarisation einer Lösung, die neben 1% Glukose und 0,2% Ammoniumborat noch 1,2% Borsäure enthielt, zeigte sich die spezifische Drehung der Glukose immer noch herabgesetzt ($+ 49{,}5^0$), die pH-Zahl hatte den Wert von 6.7. Von Interesse war weiterhin noch der Einfluß der Ammoniumboratlösung auf die Fruktose. Hierzu wurden zwei, den untersuchten 1%igen Glukoselösungen entsprechende 1%ige Fruktoselösungen mit je 0,2% bzw. 0,1% Ammoniumborat versetzt und die Lösungen polarisiert. Die spezifische Drehung betrug $- 70^0$ bzw. $- 79^0$. Die angewandten Ammoniumboratmengen genügten nicht, um die spezifische Drehung der Fruktose in geeignetem Maß zu verändern. Es mußte also mehr Ammoniumborat zugesetzt werden. Ein höherer Zusatz schadete aber der spezifischen Drehung der Glukose.

C. Polarisationen von Glukose und Fruktose in gepufferten Ammoniumboratlösungen.

Da nach dem Vorhergesagten die p_H-Stufe von ausschlaggebendem Einfluß auf die Drehungen der Glukose-Ammoniumboratlösungen war,

schien eine schärfere Definierung der pH-Stufe nach der sauren Seite hin zweckmäßig. Um eine pH-Stufe von ungefähr 5—5,2 zu erzielen, wurde mit primärem Kaliumphosphat gepuffert. Zur Verwendung kam eine molekular-n primäre Kaliumphosphatlösung. 25 ccm einer Lösung, die neben 1% Glukose und 0,2% Ammoniumborat noch 2 ccm m-n primäre Kaliumphosphatlösung enthielten, wurden polarisiert. Zuerst mutarotierte die Lösung noch etwas, da in dieser gepufferten Lösung die Menge des Ammoniumborats nicht genügte, um die Mutarotation sofort aufzuheben. Nach 24 Stunden war die Mutarotation verschwunden, die Glukose zeigte die spezifische Drehung $+ 52{,}5^0$. In ähnlicher Weise verhielt sich auch eine Lösung, die neben derselben Glukose- und Kaliumphosphatkonzentration 0,5% Ammoniumborat enthielt. Nach kurzer Mutarotation ging die spezifische Drehung auf $+ 52{,}5^0$ zurück. Eine entsprechende 1%ige Fruktoselösung mit denselben Mengen primäres Kaliumphosphat und Ammoniumborat ergab für die Fruktose eine spezifische Drehung von $- 66{,}5^0$. Um die Linksdrehung der Fruktose noch zu verringern, wurde bei derselben Menge Pufferlösung die Menge des zugesetzten Ammoniumborats vermehrt. Die Gegenwart von 0,8% Ammoniumborat drückte die spezifische Drehung der Fruktose auf $- 57{,}5^0$ herunter, während die Glukose noch ihre spezifische Drehung von $+ 52{,}5^0$ beibehielt. Wurde nun bei dieser Ammoniumboratkonzentration die Menge Kaliumphosphat verdoppelt — statt 2 ccm waren also 4 ccm m-n prim. Kaliumphosphatlösung in 25 ccm enthalten —, so blieb die spezifische Drehung der Glukose weiter konstant, der Drehungsabfall der Fruktose hatte aber etwas nachgelassen ($- 61{,}5^0$). Die Mengen des zugesetzten Ammoniumborats und des prim. Kaliumphosphats wurden in mehreren Versuchen weiter vergrößert und das Verhältnis zueinander geändert. Es mußten größere Mengen Borat und Puffer zugefügt werden, um auch bei erhöhter Zuckerkonzentration in genügendem Ueberschuß in Lösung zu sein. Auch bei größeren Zuckermengen mußte die spezifische Drehung der Glukose konstant bleiben und die spezifische Drehung der Fruktose sich konstant erniedrigen, falls sich auf dieser Erscheinung eine quantitative Bestimmungsmethode aufbauen lassen sollte. Schließlich kam ich zur Polarisation von 1%igen Glukose- und Fruktoselösungen, die neben 2% Ammoniumborat noch 5 ccm m-n prim. Kaliumphosphatlösung in 25 ccm enthielten. Hier wurde die spezifische Drehung der Fruktose zwar auf $- 48^0$ herabgedrückt, jedoch war die Glukosedrehung ebenfalls um 1^0 auf $51{,}5^0$ gesunken. Diese Versuche zeigten also, daß die Erhöhung der Ammoniumboratmenge die Fruktosedrehung mehr erniedrigte, aber auch die Drehung der Glukose etwas herabsetzte. Wurde dagegen eine größere Menge prim. Kaliumphosphat zugesetzt, so blieb die Glukosedrehung zwar konstant auf $+ 52{,}5^0$, jedoch war dann die Herabsetzung der Fruktosedrehung nicht so groß. Um nun zu sehen, wie sich dieses Verhältnis von Ammoniumborat zu prim. Kaliumphosphat in verschieden starker Zucker-

lösung auswirkt, wurden die Zuckerlösungen, die dieselben Mengen Salze wie vorher enthielten, in stärkerer und schwächerer Zuckerkonzentration polarisiert. Eine 0,4%ige Glukoselösung zeigte eine spezifische Drehung von + 52,5°, eine 4%ige Lösung + 53,1°. Die spezifische Drehung einer 0,4%igen Fruktoselösung betrug — 51,25°, einer 0,8%igen Lösung — 51°, stieg aber bei einer 4%igen Lösung auf — 55,8°. Bei der höheren Fruktosekonzentration genügte also die Salzmenge noch nicht, um die spezifische Drehung der Fruktose auf ungefähr — 50° herabzudrücken. Bei den letzten Versuchen waren in 25 ccm Zucker-Salzlösung je 5 ccm m-n prim. Kaliumphosphatlösung und 10 ccm 5%ige Ammoniumboratlösung enthalten.

Es wurde nun versucht, die in diesen Lösungen vorhandenen Salzmengen zusammen in 10 ccm aufzulösen. Diese neue Lösung war also für prim. Kaliumphosphat m-n und enthielt 5% Ammoniumborat. Mit dieser Salzlösung Nr. 1 wurden nun die Zuckerlösungen versetzt und polarisiert. 25 ccm 0,4%ige Glukoselösung, in denen 10 ccm Salzlösung Nr. 1 enthalten waren, wurden polarisiert und die spezifische Drehung + 51,25° festgestellt. Eine entsprechende 0,4%ige Fruktoselösung zeigte die spezifische Drehung — 57,5°. Durch 10 ccm der Salzlösung Nr. 1 gelang es also noch nicht, die spezifische Drehung der Fruktose in gewünschtem Maße herabzusetzen. Es wurde jetzt so verfahren, daß der abgewogene Zucker in einem 25 ccm-Kölbchen in nicht ganz 5 ccm Wasser gelöst und mit 20 ccm, also der doppelten Menge Salzlösung Nr. 1, versetzt wurde. Das Gesamtvolumen wurde dann mit Wasser auf 25 ccm gebracht. Eine auf diese Weise hergestellte 0,4%ige Glukoselösung hatte die spezifische Drehung + 51,25°, eine entsprechende 0,4%ige Fruktoselösung — 48,75°. Hiermit war also die Salzlösung und ihre Menge gefunden, die, den Zuckerlösungen zugesetzt, bei der Glukose keine wesentliche, dagegen bei der Fruktose eine starke Abnahme der spezifischen Drehung herbeiführte.

Es wurden nun verschiedene Zuckermengen in 5 ccm Wasser gelöst, mit 20 ccm der Salzlösung Nr. 1 versetzt und polarisiert. Aus den beiden kleinen Tabellen ist die Aenderung der spezifischen Drehung bei verschiedener Zuckerkonzentration ersichtlich.

Tabelle 23

Menge der Glukose	Spezifische Drehung
0,4%	+ 51,25°
0,8%	+ 51,88°
2 %	+ 50,0°
4 %	+ 49,5°
8 %	+ 49,75°

Tabelle 24

Menge der Fruktose	Spezifische Drehung
0,4%	— 48,75°
0,8%	— 51,25°
4 %	— 51,5°
8 %	— 55,25°

Es ist hier deutlich zu sehen, daß die spezifische Drehung der Glukose bei steigender Glukosekonzentration etwas abnimmt, während die spezifische Drehung der Fruktose bei steigender Konzentration zunimmt.

Zwischendurch wurden noch 25 ccm einer Lösung polarisiert, die gleichzeitig 0,4% Glukose und 0,4% Fruktose in 5 ccm Wasser neben 20 ccm Salzlösung Nr. 1 enthielt. Hier war überhaupt keine Drehung festzustellen. Diese Erscheinung ist folgendermaßen zu erklären. Durch den Zusatz der Salze wird die spezifische Linksdrehung der Fruktose ungefähr genau so groß wie die spezifische Rechtsdrehung der Glukose, bei gleicher Menge Zucker heben sich also die Drehungen gegenseitig auf. Wie schon erwähnt, nahm die spezifische Drehung der Glukose bei höherer Zuckerkonzentration etwas ab. Diese Eigenschaft der Glukose mußte ausgeschaltet oder umgangen werden, d. h. die spezifische Drehung der Glukose mußte immer gleichmäßig hoch bleiben, wenn aus dem Abfall der Fruktose eine quantitative Bestimmung abgeleitet werden sollte.

Es blieb noch der Einfluß des Phosphats auf die Drehung der Glukose festzustellen, und zwar ergab sich, daß das prim. Kaliumphosphat keinen Einfluß ausübte.

Bevor nun zu anderen Konzentrationen der beiden Salze übergegangen wurde, mußte noch geprüft werden, ob sich die Methode überhaupt bei Mischungen von Glukose und Fruktose anwenden ließ. Eine Mischung von gleichen Teilen Fruktose und Glukose hatte schon früher einmal den polarisierten Lichtstrahl überhaupt nicht gedreht, eine Erscheinung, die gut mit den seitherigen Beobachtungen übereinstimmte. Erneut wurden nun stärkere Zuckerlösungen mit der Salzlösung Nr. 1 polarisiert. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von 0,8% Fruktose und 0,8% Glukose wurde eine Drehung von $+ 0{,}01^0$ abgelesen. Eine Lösung mit je 4% Fruktose und Glukose zeigte durch den Einfluß der Salzlösung nur eine Drehung von $- 0{,}03^0$. Schließlich wurden in dieser Richtung noch zwei Zucker-Salz-Lösungen polarisiert, die erste Lösung enthielt neben viel Fruktose wenig Glukose und die zweite Lösung umgekehrt neben wenig Fruktose viel Glukose. 4% Fruktose neben 0,4% Glukose bewirkten eine Drehung von $- 3{,}56^0$, und umgekehrt 0,4% Fruktose neben 4% Glukose eine Drehung von $+ 3{,}57^0$. Diese letzten Versuche zeigten, daß sich diese Methode auch bei Mischungen von Fruktose und Glukose sehr gut anwenden läßt.

Außerdem mußte natürlich vorher noch untersucht werden, wie sich die spezifische Drehung anderer Zucker durch die Salzlösung verändert. Einige Versuche zeigten, daß sich die spezifischen Drehungen der Saccharose, der Laktose und der Maltose durch Zusetzen der Salzlösung nicht änderten, sondern ihren alten Wert beibehielten.

Die größte Schwierigkeit bestand nun noch darin, daß noch einmal versucht wurde, die spezifische Drehung der Glukose auf $+ 52{,}5^0$ zu hal-

ten. Die zuletzt verwendete Salzlösung Nr. 1 war eine 0,5 m-n prim. Kaliumphosphatlösung mit einem Gehalt von 5% Ammoniumborat. Bei den weiteren Salzlösungen wurde der Gehalt an Ammoniumborat herabgesetzt. Als Salzlösung Nr. 2 wurde den Zuckern 20 ccm einer 0,5 m-n prim. Kaliumphosphatlösung mit 4% Ammoniumborat zugesetzt. Die Fruktose oder die Glukose wurde wieder zu 5 ccm in Wasser aufgelöst und mit 20 ccm Salzlösung Nr. 2 gemischt. Tabellen 25 und 26 zeigen den Einfluß der Salzlösung Nr. 2 auf die spezifische Drehung der Glukose und der Fruktose bei verschiedener Zuckerkonzentration.

Tabelle 25

Menge der Glukose	Spezifische Drehung
0,4%	+ 51,25°
2 %	+ 49,5°
4 %	+ 49,5°

Tabelle 26

Menge der Fruktose	Spezifische Drehung
0,8%	— 53,75°
1,6%	— 52,5°
3,2%	— 52,65°

Auch hier läßt die spezifische Drehung der Glukose bei erhöhter Konzentration deutlich nach. Die Ammoniumboratmenge wurde deshalb noch weiter herabgesetzt. Die Salzlösung Nr. 3 war eine 0,5 m-n prim. Kaliumphosphatlösung mit 3% Ammoniumborat. Die Versuche wurden genau ausgeführt wie mit Salzlösung Nr. 2. Die veränderten spezifischen Drehungen sind in den Tabellen 27 und 28 angeführt.

Tabelle 27

Menge der Glukose	Spezifische Drehung
0,4%	+ 52,5°
2 %	+ 51,25°
2,4%	+ 50,42°
4 %	+ 50,62°

Tabelle 28

Menge der Fruktose	Spezifische Drehung
0,8%	— 57,5°
1,6%	— 54,69°
3,2%	— 57,56°

Die spezifische Drehung der Glukose wurde bei höherer Konzentration noch durch das Ammoniumborat beeinflußt. Eine Salzlösung Nr. 4 enthielt neben dem prim. Kaliumphosphat nur noch 2% Ammoniumborat. Diese Menge Ammoniumborat genügte aber nicht zur sofortigen Aufhebung der Mutarotation bei der Glukose. Erst nach zwei Stunden war die Mutarotation beendet. Tabellen 29 und 30 zeigen die spezifischen Drehungen der Fruktose und der Glukose nach aufgehobener Mutarotation in Lösungen, die den früheren Versuchen entsprechend die Salzlösung Nr. 4 enthielten.

Tabelle 29

Menge der Glukose	Spezifische Drehung
0,4%	+ 52,6°
2 %	+ 52,0°
4 %	+ 51,36°

Tabelle 30

Menge der Fruktose	Spezifische Drehung
0,8%	— 64,38°
1,6%	— 63,75°
3,2%	— 64,53°

Die in 20 ccm Salzlösung Nr. 4 vorhandenen Salze wurden jetzt zu 10 ccm in Wasser gelöst, diese neue Salzlösung Nr. 5 war also doppelt so konzentriert wie die vorhergehende Lösung. In den nächsten Versuchen wurden nun 10 ccm Salzlösung Nr. 5 zugesetzt, dadurch konnten größere Zuckermengen in den 15 ccm Wasser gelöst werden. Tabelle 31 ist also nur als Fortsetzung von Tabelle 29 zu betrachten.

Tabelle 31.

Menge der Glukose	Spezifische Drehung
8%	+ 51,31°
12%	+ 51,29°
18%	+ 51,41°

Wie die bis jetzt mit sämtlichen Salzlösungen angestellten Versuche gezeigt haben, wurde die Glukose immer etwas von dem Ammoniumborat angegriffen, auch noch mit weiteren Salzlösungen ausgeführte Untersuchungen führten zu keinem anderen Ergebnis.

Wie später gezeigt wird, läßt sich die Fruktose und Glukose aus der großen Drehungsabnahme der Fruktose und der kleinen Drehungsabnahme der Glukose berechnen. Wenn nun aber doch mit einer Drehungsabnahme der Glukose gerechnet werden muß, so ist es besser, den Zuckern eine Salzlösung zuzusetzen, die die Drehung der Fruktose möglichst stark erniedrigt. Dadurch ist es möglich, die beiden Monosaccharide genauer zu berechnen, als bei einer nur geringen Drehungsabnahme der Fruktose. Es wurde deshalb auf die Salzlösung Nr. 1 zurückgegriffen, bei nur geringer Drehungsabnahme der Glukose war die Abnahme der Drehung der Fruktose verhältnismäßig groß. In vielen Versuchen wurden verschiedene Mengen zuerst der Glukose und dann der Fruktose zu 5 ccm in Wasser gelöst und mit 20 ccm der Salzlösung Nr. 1 versetzt (5% Ammoniumborat, 0,5 m-n prim. Kaliumphosphat). Die Versuche hatten den Zweck, die Mittelwerte der durch die Ammoniumboratbehandlung herabgesetzten Drehungen festzustellen. In den beiden Tabellen 32 und 33 sind die einzelnen Mittelwerte bei verschiedener Zuckerkonzentration angegeben.

Tabelle 32.

g Glukose in 5 ccm Wasser:	0,03	0,05	0,08	0,1	0,2	0,5
Spez. Rechtsdrehg., Grad:	54,17	52,5	51,56	50,0	50,0	49,75
g Glukose in 5 ccm Wasser:	0,8	1,0	1,2	1,5	1,8	2,0
Spez. Rechtsdrehg., Grad:	49,53	49,5	49,5	49,6	49,7	49,7

Tabelle 33.

g Fruktose in 5 ccm Wasser:	0,03	0,05	0,08	0,1	0,2	0,5
Spez. Linksdrehg., Grad:	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
g Fruktose in 5 ccm Wasser:	0,8	1,0	1,2	1,5	1,8	2,0
Spez. Linksdrehg., Grad:	50,31	50,75	50,94	53,0	55,14	56,4

In einem Beispiel soll noch gezeigt werden, wie die spezifische Drehung berechnet worden ist. 0,1 g Glukose wurde in einem 25 ccm-Kölbchen in nicht ganz 5 ccm Wasser gelöst, mit 20 ccm Salzlösung Nr. 1 versetzt und das Gesamtvolumen mit Wasser auf 25 ccm gebracht. Diese Lösung wurde im 20 cm-Rohr polarisiert und eine Drehung von $+ 0{,}40^0$ abgelesen. Die Lösung enthielt 0,4% Glukose. Eine 0,1%ige Lösung dreht dann nur $+ 0{,}10^0$ im 20 cm-Rohr, im 10 cm-Rohr die Hälfte, also $+ 0{,}05^0$. Die spezifische Drehung beträgt dann $+ 0{,}05^0 \times 1000 = + 50^0$. Aus einer Ablesung von $0{,}41^0$, also bei $0{,}01^0$ Unterschied, errechnet sich in diesem Fall eine spezifische Drehung von $+ 51{,}25^0$, ein Beweis dafür, wie exakt die Herstellung der Lösung und die Ablesung bei einer Temperatur von 20^0 vorgenommen werden muß. Der Auswertung der Untersuchungen für eine quantitative, polarimetrische Glukose-Fruktosebestimmung ist noch folgendes vorauszustellen. Aus den Tabellen 32 und 33 geht hervor, daß sich die herabgesetzten Drehungen der Glukose und der Fruktose nicht über die ganze Reihe der Zuckerkonzentrationen in engen Grenzen hält. Die äußeren, stark abweichenden Werte wurden deshalb nicht berücksichtigt. Eine Bestimmung der Fruktose neben der Glukose kann nur in Lösungen vorgenommen werden, die etwa 0,1 g bis 1 g Glukose und 0,1 g bis 1 g

Fruktose enthalten. Diese 0,1 g bis 1 g der einzelnen Zucker sind in 5 ccm enthalten, die Ausgangslösung darf also von den beiden Monosacchariden je 2% bis 20% enthalten. Liegen mutmaßlich höhere Zuckerkonzentrationen zur Untersuchung vor, so ist dementsprechend zu verdünnen.

Der Gang der Berechnung soll jetzt hier zu Beginn des analytischen Teils angeführt werden. Die Werte für die spezifischen Drehungen nach der Abnahme durch die Salzlösungen sollen aber nicht den bisherigen Untersuchungen entnommen werden, sondern als Ergebnisse der folgenden Untersuchungen vorweggenommen werden. Es zeigte sich nämlich anhand mehrerer Analysen, daß die verminderten spezifischen Drehungen in Zukkergemischen und in Gegenwart von Saccharose etwa den Werten entsprechen, die bei 20%igen Zuckerlösungen erhalten worden sind. (1 g Zukker in 5 ccm, s. Tab. 32 und 33).

2. Methode und Berechnung des Verfahrens mit Versuchen, die zu seiner Aufstellung führten.

Die quantitative, polarimetrische Bestimmung der Glukose und Fruktose beruht auf folgender Ueberlegung. Aus einer wässrigen Lösung, die Glukose und Fruktose enthält, kann man die beiden Zucker polarimetrisch nicht bestimmen. Wenn man nun 5 ccm einer Ausgangslösung, die nicht weniger als 2% und nicht mehr als 20% Fruktose oder Glukose enthalten darf, mit 20 ccm Wasser verdünnt, und polarisiert, so erhält man einen Wert a. Dieser Wert a setzt sich zusammen aus der Drehung der Glukose (x) und der Drehung der Fruktose (y). Also ist

$$a = x + y.$$

y oder die Drehung der Fruktose ist immer negativ. Setzt man nun zu 5 ccm der Ausgangslösung statt 20 ccm Wasser 20 ccm der Salzlösung Nr. 1 (s. S. 31), so wird der Wert b abgelesen, d. h. die spezifische Drehung der Glukose wird von $+ 52{,}5^0$ auf $+ 49{,}5^0$ und die spezifische Drehung für Fruktose von -91^0 auf $-50{,}5^0$ vermindert. Die spezifische Drehung der Fruktose von -91^0 und der Glukose von $+ 52{,}5^0$ entsprechen den von mir tatsächlich gefundenen Zahlen. Der Wert b setzt sich also zusammen aus der verminderten spezifischen Drehung der Glukose und der verminderten spezifischen Drehung der Fruktose. Die verminderte spezifische Drehung der Glukose ist aber der $\frac{49.5}{52,5}$te Teil der ursprünglichen Drehung, und die verminderte spezifische Drehung der Fruktose ist der $\frac{50.5}{91,0}$te Teil der Drehung der Fruktose in wässriger Lösung. Der Wert b setzt sich also zusammen aus $\frac{49.5}{52,5}$ x und $\frac{50,5}{91}$ y. Folgende Gleichungen können also aufgestellt werden:

$$\text{(I)} \quad a = x + y$$

$$\text{(II)} \quad b = \frac{49,5}{52,5}\, x + \frac{50,5}{91}\, y.$$

Durch die Substitutionsmethode können diese Gleichungen mit 2 Unbekannten aufgelöst werden.

$$x = a - y$$

$$b = \frac{49{,}5}{52{,}5}(a - y) + \frac{50{,}5}{91} y$$

Hieraus kann y berechnet werden.

$$b = 0{,}9429\ (a - y) + 0{,}555\ y$$

$$0{,}555\ y - 0{,}9429\ y = b - 0{,}9429\ a$$

$$0{,}3879\ y = 0{,}9429\ a - b$$

$$y = 2{,}431\ a - 2{,}575\ b$$

Berechnung von x:

$$x = a - y$$

$$x = a - 2{,}431\ a + 2{,}578\ b$$

$$= 2{,}578\ b - 1{,}431\ a.$$

x und y sind die Drehungen der Glukose bzw. der Fruktose in der Ammoniumborat-Zuckerlösung. Die Ausrechnung kann noch vereinfacht werden, indem man die Drehungen auf den Zuckergehalt in Prozenten, bezogen auf die 5 ccm Ausgangslösung, ausrechnet. Da die Ausgangslösung um das Fünffache verdünnt wurde, ist die Drehung der Glukose in der Ausgangslösung 5 mal größer, als in der verdünnten Lösung gefunden wurde.

$$5 \times y = (2{,}578\ b - 1{,}431\ a) \times 5$$

$$= 12{,}890\ b - 7{,}155\ a.$$

Im 20 cm-Rohr dreht nun eine „100%ige Glukoselösung" den Lichtstrahl um 105^0 nach rechts, eine Lösung mit gesuchtem Prozentgehalt um $(12{,}890\ b - 7{,}155\ a)^0$ nach rechts.

Es verhält sich also:

$$100 : 105 = \text{gesucht. \%-Gehalt} : (12{,}89\ b - 7{,}155\ a)$$

$$\text{ges. \%-Geh.} = \frac{(12{,}89\ b - 7{,}155\ a) \times 100}{105}$$

$$= 12{,}28\ b - 6{,}814\ a.$$

Der Prozentgehalt der Ausgangslösung an Glukose ist also: (12,28 b — 6,814a)% (a und b im 20 cm-Rohr gemessen).

Ebenso wie bei der Glukose ist die Drehung der Fruktose in der Ausgangslösung fünfmal größer, als in der 1:5 verdünnten Lösung berechnet wurde.

$$5 \times y = (2{,}431\ a - 2{,}578\ b) \times 5$$

$$= 12{,}155\ a - 12{,}89\ b.$$

Im 20 cm-Rohr dreht nun eine „100%ige Fruktoselösung“ den Lichtstrahl um -182^0, eine Lösung mit gesuchtem Prozentgehalt den Lichtstrahl um $(12{,}155\ a - 12{,}89\ b)^0$ nach links. Es verhält sich also

$$100 : -182 = \text{gesucht. \%-Gehalt} : (12{,}155\ a - 12{,}89\ b)$$

$$100 : 182 = \text{gesucht. \%-Gehalt} : (12{,}89\ b - 12{,}155\ a)$$

$$\text{ges. \%-Geh.} = \frac{(12{,}89\ b - 12{,}155\ a) \times 100}{182}$$

$$= 7{,}082\ b - 6{,}679\ a.$$

Der Prozentgehalt der Ausgangslösung an Fruktose ist also: (7,082 b — 6,679 a)% (a und b im 20 cm-Rohr gemessen).

Bei der Anwesenheit von Saccharose in der Ausgangslösung ist folgendermaßen zu verfahren: Die Saccharoselösung wird in ihrer spezifischen Drehung durch das Zusetzen von Ammoniumborat und prim. Kaliumphosphat nicht beeinflußt. In der Gesamtdrehung der mit Wasser und mit Salzlösung versetzten Ausgangslösungen ist also jedesmal ein und dieselbe Rechtsdrehung für Saccharose enthalten. Ist also Saccharose in der Ausgangslösung vorhanden, so muß die Drehung der Saccharose in den verdünnten Lösungen jeweils von den Werten a und b abgezogen werden. Mit diesen, um dieselbe Größe verminderten Werten von a und b kann dann nach dem auf Seite 35 entwickelten Verfahren die Glukose und die Fruktose berechnet werden. Der Prozentgehalt der Ausgangslösung an Saccharose muß also zunächst auf gravimetrischem Wege mit Hilfe der Kupferoxydulfällung vor und nach der Inversion bestimmt werden. Auf anderem Wege kann der Gehalt an Saccharose durch Polarisation vor und nach der Inversion gefunden werden. Hat man nun den Prozentgehalt z der Saccharose in der Ausgangslösung ermittelt, so wird hieraus die Drehung der Saccharose w in der um das Fünffache verdünnten Ausgangslösung im 20 cm-Rohr berechnet. In der Ausgangslösung sind also z% Saccharose enthalten. Eine „100%ige Saccharoselösung“ hätte dann im 10 cm-Rohr eine Drehung von $= 66{,}5^0$, eine z%ige Lösung hat also eine Drehung von $\frac{66{,}5}{100} \times z^0$. Nun wird die Ausgangslösung um das Fünffache verdünnt und im 20 cm-Rohr gemessen. Unter diesen Bedingungen ist dann die Drehung der Saccharose

$$w = \frac{66{,}5 \times z \times 2}{100 \times 5}^0$$

$$= 0{,}266\ z^0$$

Dieser Wert $w = 0{,}266\ z^0$ ist also vor der Berechnung der Glukose und Fruktose jeweils von den Ablesungen a und b abzuziehen.

Beispiel der Berechnung: Ausgangslösung enthält 2% Saccharose, ge-

funden durch gravimetrische Bestimmung nach Fehling oder durch Polarisation.

Lösung I: 5 ccm Ausgangslösung + 20 ccm Wasser (evtl. 1 Tropfen Ammoniak zur Beseitigung der Mutarotation). Abgelesener Wert a + w = — 0,24°.

Lösung II: 5 ccm Ausgangslösung + 20 ccm Salzlösung Nr. 1 (ohne Zusatz von Ammoniak). Abgelesener Wert:

$$b + w = + 0{,}52$$
$$a + w = - 0{,}24$$
$$z = 2$$
$$w = 0{,}266\ z$$
$$= 0{,}532$$
$$a = - 0{,}772$$
$$b = - 0{,}012$$

Prozentgehalt der Ausgangslösung an Glukose

$$= 12{,}28\ b - 6{,}814\ a$$
$$= - 0{,}144 + 5{,}26$$
$$= 5{,}12\%.$$

Prozentgehalt der Ausgangslösung an Fruktose

$$= 7{,}082\ b - 6{,}679\ a$$
$$= - 0{,}085 + 5{,}156$$
$$= 5{,}07\%.$$

In der selbst hergestellten Ausgangslösung waren je 5% Fruktose und Glukose enthalten.

Es folgt nun noch die Zusammenstellung einiger Analysen, die nach der angegebenen Methode ausgeführt und berechnet wurden. Wie schon angedeutet, wurde in vielen Versuchen gefunden, daß die Werte für die durch die Salzlösung Nr. 1 verminderten spezifischen Drehungen mit + 49,5° bzw. — 50,5° am besten für die verschiedenen Konzentrationen von Fruktose und Glukose, auch in Gegenwart von Saccharose, geeignet waren. Wurden diese Werte in die Gleichung II eingesetzt, so kamen die Resultate der Berechnung den wirklichen Gehalten der Ausgangslösung am nächsten. Zuerst wurden einige Lösungen analysiert, die nur Fruktose und Glukose enthielten.

Tabelle 34.

		Angewandt	Gefunden
1.	Glukose	7,27%	7,20%
	Fruktose	3,73%	3,60%
2.	Glukose	2,73%	2,96%
	Fruktose	7,27%	7,27%
3.	Glukose	6,82%	6,51%
	Fruktose	3,18%	2,84%
4.	Glukose	4,54%	4,74%
	Fruktose	5,46%	5,54%
5.	Glukose	3,64%	4,10%
	Fruktose	6,36%	6,19%
6.	Glukose	1,82%	2,09%
	Fruktose	8,18%	8,19%

In Gegenwart von Saccharose wurden folgende Werte gefunden:

Tabelle 35.

		Angewandt	Gefunden
1.	Glukose	2,0%	2,22%
	Fruktose	8,0%	8,14%
	Saccharose	3,0%	
2.	Glukose	3,5%	3,92%
	Fruktose	6,5%	6,78%
	Saccharose	3,0%	
3.	Glukose	2,0%	1,79%
	Fruktose	3,0%	2,86%
	Saccharose	5,0%	
4.	Glukose	5,0%	5,11%
	Fruktose	5,0%	5,07%
	Saccharose	3,0%	
5.	Glukose	6,5%	6,26%
	Fruktose	3,5%	3,36%
	Saccharose	3,0%	
6.	Glukose	8,0%	7,72%
	Fruktose	2,0%	1,86%
	Saccharose	3,0%	

Die Werte stimmen verhältnismäßig gut, wenn man die möglichen Fehlerquellen und die durch die Verdünnungen notwendigen Umrechnungen berücksichtigt.

An einem Beispiel, der Analyse 5, soll noch gezeigt werden, wie sich das Analysenergebnis ändert, wenn der Wert b nur um $+ 0{,}01^0$ höher abgelesen wird. Der Prozentgehalt der Glukose steigt dadurch von 6,26% auf 6,38%, der Prozentgehalt der Fruktose von 3,36% auf 3,44%.

Das hier angegebene Verfahren wurde nun auf seine Brauchbarkeit als polarimetrische Bestimmungsmethode von Glukose und Fruktose im Bienenhonig und Kunsthonig geprüft.

3. Versuche zur Anwendung des Verfahrens in der Lebensmittelchemie.

A. Bienenhonig.

In jedem Bienenhonig sind neben ungefähr 75% Invertzucker noch etwas Saccharose und in geringer Menge andere Stoffe enthalten. Die Menge der Saccharose mußte zunächst in dem vorliegenden Bienenhonig bestimmt werden. Durch die gravimetrische Bestimmung der Kupferreduktion vor und nach der Inversion wurden 2,7% Saccharose gefunden. Nun sollte nach dem in dieser Arbeit entwickelten Verfahren die Menge Glukose und Fruktose in dem Honig bestimmt werden. Es wurde deshalb die Arbeitsweise in Gegenwart von Saccharose angewendet. 5 g Bienenhonig wurden genau gewogen und zu 100 ccm in destilliertem Wasser aufgelöst. Diese 5%ige Lösung wurde filtriert und einmal mit 20 ccm Wasser und 1 Tropfen Ammoniak, weitere 5 ccm mit 20 ccm Salzlösung Nr. 1 versetzt. Für $a + w$ wurde $- 0{,}15^0$, für $b + w + 0{,}14^0$ abgelesen.

Berechnung von w: In 100 g Honig waren 2,7 g Saccharose, in 5 g Honig 0,135 g Saccharose enthalten. Die Ausgangslösung hatte also einen Saccharosegehalt von 0,135%. Um von diesem Prozentsatz auf die Drehung w zu kommen, mußte 0,135 mit 0,266 multipliziert werden (s. S. 36 $w = 0{,}266\ z$).

$$w = 0{,}036^0$$

$$a + w = - 0{,}15^0$$

$$b + w = + 0{,}14^0$$

$$a = - 0{,}186^0$$

$$b = + 0{,}104^0$$

Berechnung der Glukose:

$$\text{Glukose} = 12{,}28\ b - 6{,}814\ a$$

$$= 1{,}277 + 1{,}267$$

$$= 2{,}544\%$$

In 5%iger Honiglösung waren 2,544% Glukose, im Honig demnach 50,88% Glukose enthalten.

Berechnung der Fruktose:

$$\text{Fruktose} = 7{,}082\ b - 6{,}679\ a$$
$$= 0{,}7365 + 1{,}242$$
$$= 1{,}98\%$$

In 5%iger Honiglösung waren 1,98% Fruktose, demnach im Honig 39,6% Fruktose enthalten.

Nach J. König (7) enthält ein reiner Bienenhonig ungefähr 36% Glukose und 37% Fruktose im Durchschnitt, also ungefähr 73% Invertzucker. Dieser Wert für Invertzucker wurde gravimetrisch auch in dem untersuchten Honig gefunden (73,72%). Um vor allem unseren Wert von Glukose nachzuprüfen, wurden zwei andere Methoden zur Glukosebestimmung herangezogen. Die erste Methode nach F. Auerbach und Bodländer (8) lieferte konstant viel zu niedrige Werte (15%—16% Glukose), nach der Methode nach J. M. Kolthoff (9) wurden 35,6% Glukose gefunden. Demnach waren dann 73,72 — 35,6 = 38,12% Fruktose im Honig enthalten.

Die angegebenen, jodometrischen Glukosebestimmungen sollen am Schluß der Arbeit noch einer näheren Betrachtung unterzogen werden.

Zu der Anwendbarkeit der hier entwickelten Bestimmungsmethode für Glukose und Fruktose im Bienenhonig ist zu sagen, daß der Wert für Fruktose verhältnismäßig gut, während der Glukosewert vollkommen unbrauchbar war. Vielleicht sind in dem Honig noch andere, die Polarisation störende Stoffe enthalten, möglicherweise noch andere Zucker, die die Drehung und die Berechnung der Glukose beeinflussen.

B. Kunsthonig.

In dem zu untersuchenden Kunsthonig wurde zuerst gewichtsanalytisch der Saccharosegehalt mit 2,7% und der Gehalt an Invertzucker mit 74,44% ermittelt. Wie bei der Untersuchung des Bienenhonigs wurde eine Kunsthonigslösung hergestellt. Dieses Mal wurde eine 10%ige Lösung als Ausgangslösung angewandt, um höhere Ablesewerte zu erzielen. Je 5 ccm dieser Lösung wurden in der üblichen Weise mit Wasser und mit Salzlösung Nr. 1 versetzt und polarisiert. Es wurde gefunden:

$$a + w = -0{,}34^0$$
$$b + w = +0{,}12^0$$

Da der Prozentgehalt an Saccharose genau so hoch war wie bei dem untersuchten Bienenhonig und die polarisierte Lösung doppelt so viel Saccharose erhielt, so war der Wert $w = 0{,}072^0$, also

$$a = -0{,}412^0$$
$$b = +0{,}048^0$$

Berechnung der Glukose:

$$\begin{aligned} \text{Glukose} &= 12{,}28\ b - 6{,}814\ a \\ &= 0{,}5894 + 2{,}8074 \\ &= 3{,}397\% \end{aligned}$$

In 10%iger Kunsthoniglösung waren 3,397% Glukose, im Kunsthonig demnach 33,97% Glukose enthalten.

Berechnung der Fruktose:

$$\begin{aligned} \text{Fruktose} &= 7{,}082\ b - 6{,}679\ a \\ &= 0{,}34 + 2{,}752 \\ &= 3{,}092\% \end{aligned}$$

In 10%iger Kunsthoniglösung waren 3,092% Fruktose, im Kunsthonig demnach 30,92% Fruktose enthalten.

Die jodometrische Glukosebestimmung nach J. M. Kolthoff ergab 43,4% Glukose. Wurde dieser Wert von dem Wert des Invertzuckers 74,44 abgezogen, so blieb für die Fruktose 31,04%. Auch hier stimmte der nach unserem Verfahren gefundene Wert mit dem nach Kolthoff ermittelten Wert überein. Dagegen war der Wert für die Glukose auch dieses Mal wieder unbrauchbar, nämlich zu niedrig.

IV. Untersuchungen über die Brauchbarkeit der jodometrischen Glukosebestimmungen nach F. Auerbach und Bodländer und nach Kolthoff.

Bei der jodometrischen Glukosebestimmung in dem Bienenhonig nach F. Auerbach und Bodländer (8) wurde darauf hingewiesen, daß die gefundenen Glukosewerte zu niedrig waren. Das Verfahren wurde deshalb mit reiner Glukose in mehreren Versuchen nachgeprüft. Hierbei wurden frühere Untersuchungen bestätigt, daß nämlich nach diesem Verfahren für die Glukose nie der theoretische Wert erhalten werden kann. Die Vorschrift der Methode nach F. Auerbach und Bodländer (8) lautet: „Zu 25 ccm der Zuckerlösung mit höchstens 0,1 g Glukose gibt man so viel 0,1 n Jodjodkaliumlösung, daß ein Drittel bis die Hälfte davon unverbraucht bleibt (für 0,1 g Glukose 16—20 ccm), fügt dann 100 ccm einer Mischung gleicher Raumteile 0,2 n Natriumkarbonatlösung und 0,2 n Natriumbikarbonatslösung hinzu und läßt $1\frac{1}{2}$ bis höchstens 2 Stunden im Dunkeln stehen. In der mit 12 ccm Schwefelsäure (25%) angesäuerten Lösung wird das freie Jod mit 0,1 n Thiosulfatlösung zurücktitriert und der Verbrauch von demjenigen abgezogen, der am gleichen Tage in blinden Versuchen für die gleiche Menge Jod, Karbonatgemisch und Schwefelsäure verbraucht wurde. 1 ccm entspricht 9,005 mg Glukose. Saccharose, Fruktose oder Dextrin stören praktisch nicht."

Es wurden mehrmals hintereinander 25 ccm einer Lösung von 50 mg Glukose und 50 mg Fruktose genau nach der angegebenen Vorschrift mit Jod, dann mit der Pufferlösung versetzt und schließlich das unverbrauchte Jod zurücktitriert. In sechs Versuchen wurden aber jeweils nur 39 bis 40 mg Glukose gefunden. Auch die Bestimmungen größerer Glukosemengen führten immer zu zu niedrigen Werten. Für eine Bestimmung von Glukose in Gegenwart von Fruktose ist also die Methode von F. Auerbach und Bodländer (8) nicht geeignet.

Zum Vergleich wurde noch die jodometrische Glukosebestimmung nach J. M. Kolthoff (9) einer näheren Untersuchung unterzogen. Dieser Autor gibt folgendes Verfahren an: „Zu 10 ccm der Zuckerlösung, die höchstens 1,1% Glukose enthalten darf, setzt man 25 ccm 0,1 n Jodlösung und darauf unter Umschütteln 30 ccm 0,1 n Natronlauge. Nach 3—10 Minuten langem Stehen in verschlossenem Gefäß säuert man mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure an und titriert den Jodüberschuß mit Thiosulfat zurück. Je 1 ccm verbrauchter 0,1 n Jodlösung entspricht 9,00 mg Glukose."

Eine Lösung, die neben derselben Menge Fruktose 40 mg Glukose enthielt, wurde mehrmals nach der Methode von Kolthoff titriert. Es wurden Werte wie 39,6 und 40,73 mg Glukose gefunden. Die Methode nach J. M. Kolthoff führt also zu einwandfreien Ergebnissen.

Zusammenfassung.

Zu Beginn der Arbeit wurde versucht, das Reduktionsvermögen, das durch Erhitzen von Zuckerlösungen mit Alkali oder Säure entsteht, zu einer titrimetrischen Bestimmung mit 2,6-Dichlorphenolindophenol bzw. Jodlösung auszuwerten. Die Aufstellung einer quantitativen Zuckerbestimmung war aber nicht möglich, da erstens sämtliche untersuchten Mono- und Disaccharide nach der Behandlung mit Alkali oder Säure Reduktionsvermögen zeigten und weil zweitens das Reduktionsvermögen nicht in jedem Fall mengenmäßig den verschiedenen Zuckergehalten entsprach. Es wurde versucht, die von T. Reichstein und R. Oppenauer (2) und H. Goldschmidt (3) aus Tetragalakturonsäure durch Behandeln mit Schwefelsäure gefundene Reduktinsäure aus Saccharose herzustellen. Dieser Versuch war erfolglos, da die Reduktinsäure nur in ungenügender Menge bei der Säurebehandlung der Saccharose entstand und eine Anreicherung der Reduktinsäure wegen ihrer in wässriger Lösung großen Empfindlichkeit gegen Sauerstoff nicht möglich war.

Die von R. Strohecker (4) begonnenen Untersuchungen über den Abfall der Leitfähigkeit von Salzsäure durch Zusatz von Kohlehydraten wurden weitergeführt und auf andere Säuren ausgedehnt.

Vergleichende Versuche über den Einfluß eines Zusatzes von Zucker zu säuerlichen Weinen und Zitronenwasser ergaben, daß sich trotz der auffallenden Geschmacksverbesserung das pH überhaupt nicht änderte.

Bei den Leitfähigkeitsmessungen von borsauren Zuckerlösungen wurde festgestellt, daß sich die Leitfähigkeit einer borsauren Fruktoselösung um das Vielfache gegen die Leitfähigkeit der Borsäure erhöht und daß die Wasserstoffionenkonzentration in demselben Maße zunimmt.

Bei polarimetrischen Untersuchungen der borsauren Fruktoselösung wurde beobachtet, daß die Drehung einer Fruktoselösung durch Zusetzen von Borsäure und Ammoniak stark vermindert wurde. Mit Hilfe dieser Erscheinung konnte eine quantitative, polarimetrische Bestimmung von Glukose und Fruktose nebeneinander entwickelt werden.

Auf Grund meiner Versuche konnte ich einen Weg zeigen, auf dem man in Lebensmitteln, in Bienenhonig oder Kunsthonig, die Fruktose in Gegenwart von Saccharose und Glukose auf direktem Wege, im Gegensatz zu den bisher verwendeten indirekten Verfahren, bestimmen kann.

Zum Schluß wurden die jodometrischen Glukosebestimmungen nach F. Auerbach und Bodländer (8) und nach J. M. Kolthoff (9) auf ihre Brauchbarkeit untersucht und hierbei festgestellt, daß die Methode von Auerbach und Bodländer, im Gegensatz zu dem Verfahren von J. M. Kolthoff, ungenaue Werte lieferte.

Die vorliegende Arbeit wurde im Universitäts-Institut für Nahrungsmittelchemie, Frankfurt a. M., auf Anregung des derzeitigen Leiters
Herrn Dr. phil nat. habil. R. Strohecker
unternommen und ausgeführt. Ich erlaube mir, auch an dieser Stelle Herrn Dr. R. Strohecker, meinem hochverehrten Lehrer, sowie Herrn Dr. R. Vaubel für die jederzeit bereitwilligst erteilten, wertvollen Ratschläge und das rege Interesse, das sie meiner Arbeit entgegenbrachten, meinen herzlichsten Dank zu sagen.

Schrifttum.

(1) H. von Euler: Liebigs Annalen der Chemie, **505,** 73. 1933.

(2) T. Reichstein u. R. Oppenauer: Helvetica Chimica Acta, Vol. XVI Fasc. 5 u. Vol. XVII Fasc. 2, 1933 u. 1934.

(3) H. Goldschmidt: Inaugural-Dissertation, Frankfurt a. M. 1935.

(4) R. Strohecker: Zeitschr. f. Analytische Chemie, Bd. 74. Heft 1 u. 2.

(5) K. Enßlin: Inaugural-Dissertation, Frankfurt a. M. 1935.

(6) Boeseken: Ber. d. Deutschen Chem. Ges. 1913, 46, 2612.

(7) J. König: Chemie d. menschl. Nahrungs- und Genußmittel, 2. Bd. 5. Aufl. 423.

(8) F. Auerbach u. Bodländer: Zeitschr. d. angewandten Chemie, 1923, 36, 602.

(9) J. M. Kolthoff: Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- und Genußmittel, Bd. 45, S. 131—141 u. 141—147, 1923.

Lebenslauf.

Ich, Alfred L. Petri, wurde am 10. Oktober 1909 in Windhuk, der Hauptstadt der damals deutschen Kolonie Deutsch-Südwest-Afrika, als Sohn des Kaufmanns Lloyd Petri und seiner Ehefrau Elisabeth geb. Groß geboren. Ich besitze die deutsche Reichsangehörigkeit. In Wiesbaden besuchte ich von 1916 bis 1920 die Mittelschule an der Luisenstraße und dann das Städt. Reform-Realgymnasium, wo ich im Februar 1929 die Reifeprüfung ablegte. Anschließend trat ich als Praktikant in die Engel-Apotheke in Wiesbaden ein und bestand im März 1931 in Wiesbaden das pharmazeutische Vorexamen. Nach 1½jähriger Konditionszeit in der Schwanen-Apotheke in Mainz begann ich im Wintersemester 1932 das pharmazeutische Studium an der Universität Frankfurt a. M. Nach vier Semestern legte ich dort im Oktober 1934 die pharmazeutische Staatsprüfung ab. Im Wintersemester 1934 arbeitete ich im pharmazeutischen Universitätsinstitut in Frankfurt a. M. organisch präparativ und begann anschließend im Mai 1935 am Frankfurter Universitätsinstitut für Nahrungsmittelchemie unter Leitung von Herrn Dr. phil. nat. habil. R. Strohecker die vorliegende Arbeit.